

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Tilo Kircher

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

Titel der Dissertation:

**Der Einfluss des Einzelnukleotidpolymorphismus rs1006737 des Gens *CACNA1C*
auf neuronale Korrelate des Arbeitsgedächtnisses**

-

Eine Studie mit funktioneller Magnetresonanztomographie

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Miriam Mette (geb. Hartmann)
aus Aschaffenburg

Marburg, 2014

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:

08. April 2014

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. Helmut Schäfer

Referent: Prof. Dr. Andreas Jansen

1. Korreferentin: PD Dr. Kamp-Becker

Inhaltsverzeichnis

1	Zielsetzung und Aufbau der Arbeit.....	6
1.1	Zielsetzung.....	6
1.2	Aufbau der Arbeit	7
2	Allgemeine Einführung und Grundlagen	9
2.1	Informationen zu Schizophrenie und Bipolarer Störung	9
2.1.1	Schizophrenie.....	9
2.1.2	Bipolare Störung.....	12
2.2	Genetische Bildgebung	13
2.3	Funktionelle Magnetresonanztomographie	15
2.4	Statistische Bildverarbeitung mit SPM	22
2.4.1	Räumliche Vorverarbeitung	23
2.4.2	Statistische Analyse der Daten	27
2.5	Das Arbeitsgedächtnis.....	29
2.6	Informationen zum Gen <i>CACNA1C</i>	33
3	Fragestellung und Hintergründe meiner Analyse	35
3.1	<i>CACNA1C</i> im Kontext der psychiatrischen Hirnforschung	35
3.2	fMRT-Studie von Bigos und Kollegen	37
3.3	Hypothese der fMRT-Studie	39
4	Methodik.....	40
4.1	Studienpopulation.....	40
4.2	Durchführung der genetischen Analyse	41
4.3	Arbeitsgedächtnisaufgabe	41
4.4	MRT-Datenaufnahme	43
4.5	MRT-Datenanalyse: Vorverarbeitung der MR-Daten	43
4.6	Statistische Auswertung	44
4.6.1	Statistische Analyse der Einzelprobanden-Daten	44
4.6.2	Statistische Analyse der Gruppendaten	46
4.6.3	Statistische Inferenz	46
5	Ergebnisse	48
5.1	Analyse der Verhaltensdaten.....	48
5.2	Analyse der fMRT-Daten	49

6	Diskussion	53
6.1	Diskussion der Ergebnisse im Kontext der Arbeit von Bigos und Kollegen	53
6.2	Die Bedeutung des Gens <i>CACNA1C</i> für die psychiatrische Hirnforschung.....	55
6.3	Forschungsausblick.....	58
7	Zusammenfassung	59
8	Anhang	61
8.1	Das Arbeitsgedächtnis.....	61
8.2	Kanalaufbau des spannungsgesteuerten Calciumkanals.....	65
9	Abbildungsverzeichnis.....	69
10	Literaturverzeichnis.....	70
11	Akademische Lehrer.....	80
12	Danksagung	81

Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
BA	<i>Brodmann-Areal</i>
BOLD	<i>Blood Oxygen Level Dependent</i>
CACNA1C	<i>Calciumkanal-Untereinheit alpha 1c</i>
DLPFC	<i>Dorsolateraler Präfrontalkortex</i>
fMRT	<i>funktionelle Magnetresonanztomographie</i>
FOV	<i>Field of view</i>
FWHM	<i>Halbwertsbreite</i>
GRFT	<i>Feldtheorie nach Gausscher Normalverteilung</i>
GWAS	<i>Genomweite Assoziationsstudien</i>
GLM	<i>Allgemeines Lineares Modell</i>
HF	<i>Hochfrequenz</i>
LTM	<i>Long term memory</i>
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
MR	<i>Magnetresonanz</i>
MRT	<i>Magnetresonanztomographie</i>
ROI	<i>Region of interest</i>
SNP	<i>Einzelnukleotid Polymorphismus</i>
SPM	<i>Statistical Parametric Mapping</i>
TA	<i>Aquisitionszeit</i>
TE	<i>Echozeit</i>
TR	<i>Repetitionszeit</i>
WFU	<i>Wake Forest University</i>

1 Zielsetzung und Aufbau der Arbeit

1.1 Zielsetzung

Die psychiatrischen Krankheitsbilder Schizophrenie und Bipolare Störung stehen schon lange im Interesse von Forschung und Wissenschaft. Dennoch sind bis heute die eigentlichen Ursachen und Entstehungsmuster nicht eindeutig geklärt. Der Reichtum an Symptomen bei beiden Erkrankungen, der sich in unterschiedlichster Art präsentiert und dadurch für jeden Betroffenen ein individuelles Krankheitsbild ergibt, trägt zusätzlich zu den Unklarheiten bei. Aufschlüsse hofft man zu finden, indem man die Struktur und Funktion der Gehirne von Erkrankten untersucht. Zahlreiche Hirnregionen haben sich auf diese Weise in Verbindung mit den Krankheiten Schizophrenie und Bipolare Störung als auffällig herausgestellt, unter anderem auch Hirnstrukturen, die mit dem sogenannten Arbeitsgedächtnis in Verbindung gebracht werden. Insbesondere für Schizophrenie sind in diesem Bereich Störungen im Funktionsablauf beschrieben worden (Cannon et al., 2005).

Es ist zudem bekannt, dass genetische Mechanismen eine bedeutende Rolle in der Entstehung und Ausprägung der Schizophrenie und der Bipolaren Störung spielen (Cardno und Gottesman, 2000; McGuffin et al., 2003). Die genetische Veranlagung bestimmt daher maßgeblich die Schwelle, die bei Überschreitung zum Krankheitsausbruch führt. Dadurch stellt sie einen entscheidenden Risikofaktor dar. Mittlerweile konnte man einige dieser Gene, die mit Schizophrenie und Bipolarer Störung in Verbindung gebracht werden, in großen Studien identifizieren (Ferreira et al., 2008; Sklar et al., 2008). Diese Entdeckung lässt sich nun mit der Tatsache, dass der Schizophrenie und der Bipolaren Störung pathologische Prozesse im Gehirn zugrunde liegen, in einen Zusammenhang bringen. Es ergibt sich die Frage, ob auch bei Gesunden, die jedoch Träger von Risikogenen sind, gestörte Interaktionen und Aktivierungen im Gehirn gefunden werden können. Man erhofft sich dadurch eine Art Zwischenstufe vor der eigentlichen äußerlichen Ausprägung der Erkrankung aufzeigen zu können, welche als Verknüpfung zwischen Risikogen und Erkrankung fungieren könnte. Diese Fragestellung beschäftigt mich auch in der vorliegenden Arbeit.

Der Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP) rs1006737 des Gens für die alpha-1c-Untereinheit eines spannungsgesteuerten Calciumkanals (*CACNA1C*) wurde zunächst als Risikogenvariante für die Bipolare Störung beschrieben (Ferreira et al., 2008).

Neuere Studien zeigen nun auch einen Zusammenhang des SNP rs1006737 mit der Schizophrenie (Bigos et al., 2010; Green et al., 2010; Nyegaard et al., 2010).

Erste Ergebnisse aus der genetischen Bildgebung zeigen mögliche Wirkmechanismen von rs1006737 im *CACNA1C* Gen auf Hirnsystemebene. Es scheint so zu sein, dass rs1006737 Veränderungen der Hirnaktivierung im rechten dorsolateralen Präfrontalkortex während des Arbeitsgedächtnisprozesses hervorruft, ähnlich wie es für bereits erkrankte Patienten mit Bipolarer Störung (Ferrier et al., 1999; McGrath et al., 2001) und insbesondere mit Schizophrenie (Cannon et al., 2005; Cannon et al., 2000; Tek et al., 2002; Vallar et al., 1997) gezeigt worden ist. Ziel dieser Arbeit ist es, diese ersten Befunde in einer unabhängigen Stichprobe zu replizieren und den tatsächlichen Einfluss des SNP rs1006737 im *CACNA1C* Gen insbesondere auf den Arbeitsgedächtnisprozess zu überprüfen. Hierfür konnte ich auf eine bereits untersuchte Stichprobe zurückgreifen, die unter dieser speziellen Fragestellung neu ausgewertet wurde.

1.2 Aufbau der Arbeit

Die oben beschriebene Fragestellung erfordert einige methodische Grundlagen und inhaltliche Voraussetzungen, um sie in ihrer Durchführung gänzlich verstehen zu können. Aus diesem Grund soll das sich hier anschließende Kapitel 2 zunächst einen Überblick über die Thematik und die verwendeten Methoden schaffen. Es ist wichtig, vorab einen Eindruck von den beschriebenen Krankheiten Schizophrenie und Bipolare Störung zu bekommen, um sich ihrer Bedeutung in der Forschung bewusst zu werden. Weiterhin wird ein aktueller Forschungsansatz beschrieben, mit dessen Hilfe es gelingen kann, sich beiden Krankheiten trotz ihrer Komplexität so zu nähern, dass die Bedeutung von Risikogenen gezielter eingeschätzt werden kann. Anschließend werden Hintergründe sowohl zu dem hier gewählten Risikogen als auch zu der untersuchten Hirnfunktion, dem Arbeitsgedächtnis, aufgezeigt.

Kapitel 3 leitet danach von den allgemeinen Grundlagen zur speziellen Methodik und Durchführung der Arbeit über. Hier soll die Bedeutung des Gens, vor allem aber sein Zusammenhang mit den oben genannten psychiatrischen Erkrankungen und seine Einordnung in die aktuelle Studienlage erläutert werden. Dieses Kapitel soll somit die Brücke zu meiner Studie schlagen und aufzeigen, welchen Beitrag sie zur Hirnforschung insbesondere im Zusammenhang mit dem Gen *CACNA1C* leistet.

Der Durchführung und Methodik der Studie ist das Kapitel 4 gewidmet. Hier wird der Einfluss des Risikoallels rs1006737 des Gens *CACNA1C* auf den Arbeitsgedächtnisprozess untersucht. Während der Ausführung einer Arbeitsgedächtnisaufgabe ist es mithilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie möglich, Aktivierungen und Korrelationen im Gehirn darzustellen. Gesunde Träger des Risikogens werden dabei mit Gesunden ohne Risikogen verglichen, um Aussagen über mögliche Einflüsse des Gens *CACNA1C* machen zu können. Die Präsentation der Ergebnisse erfolgt dann im sich anschließenden Kapitel 5.

Eine Abrundung erhält die Arbeit in Kapitel 6, in dem Gültigkeit der Methodik und Aussagekraft der Studie besonders im Hinblick auf die zugrunde liegenden Ergebnisse einer Diskussion und Interpretation unterzogen werden.

2 Allgemeine Einführung und Grundlagen

In diesem Kapitel wird zunächst eine Einführung in die Krankheiten „Schizophrenie“ und „Bipolare Störung“ gegeben. Hieran schließen sich Erläuterungen zur Methode der genetischen Bildgebung an. Darüber hinaus werden die Grundlagen der funktionellen Magnetresonanztomographie sowie der statistischen Bildverarbeitung beschrieben. Abschließend folgt eine Einführung zum Gen *CACNA1C*, dessen Rolle im Zusammenhang mit Arbeitsgedächtnisfunktionen beurteilt werden soll.

2.1 Informationen zu Schizophrenie und Bipolarer Störung

2.1.1 Schizophrenie

Die Geschichte und damit die Forschung an Schizophrenie und Bipolarer Störung reicht weit zurück. Schon Ende des 19. Jahrhunderts hat Kraepelin einige Forschungen zu diesen psychiatrischen Krankheiten und Störungen angestellt. Sein Hauptaugenmerk richtete sich dabei auf die Schizophrenie. Damals bezeichnete er diese Verhaltensauffälligkeit mit dem Begriff „Dementia praecox“ (Rossler et al., 2005). Den eigentlichen Begriff „Schizophrenie“ prägte ursprünglich aber Eugen Bleuler Anfang des 20. Jahrhunderts (Stotz-Ingenlath, 2000). Da die Schizophrenie ein sehr heterogenes Störungsbild ist, lassen sich unterschiedlichste Symptome aufführen. Charakteristische Symptome, die mit der Erkrankung einhergehen, können dabei in Gruppen eingeteilt werden. Gebräuchlich sind sowohl die Einteilung nach Eugen Bleuler, der von Grundsymptomen und akzessorischen Symptomen spricht, als auch Kurt Schneiders Einteilung (Möller et al., 2009).

Die Symptome, die sich aus der Einteilung nach Kurt Schneider ergeben, werden dabei als Symptome ersten Ranges und zweiten Ranges bezeichnet. Wahrnehmungen, dialogisierende Stimmen, akustische Halluzinationen, Gedanken-laut-werden, Gedankenentzug, Gedankeneingebung, Gedankenausbreitung und weitere Wahrnehmungen, die dem Erkrankten das Gefühl des „Gemachten“ verleihen, führt Schneider als Symptome ersten Ranges auf. Wahneinfälle, optische Halluzinationen, Affektveränderungen und Rastlosigkeit werden als Symptome zweiten Ranges bezeichnet. Zusätzlich treten Gedächtnis- und Konzentrationsverluste bei Patienten mit Schizophrenie auf. Diese stellen eines der Hauptdefizite innerhalb des Krankheits-

verlaufs dar (Dickinson et al., 2007) und können als Ausdruck eines gestörten Arbeitsgedächtnisprozesses gedeutet werden.

Die Krankheit Schizophrenie kommt dabei in allen Kulturen und Gesellschaftsschichten vor. Bislang ist die Ätiopathologie nicht genau geklärt, man geht jedoch von einer multifaktoriellen Entstehung aus (Möller et al., 2009). Abbildung 1 zeigt diesen Prozess schematisch.

Multifaktorielles Entstehungsmodell der Schizophrenie :

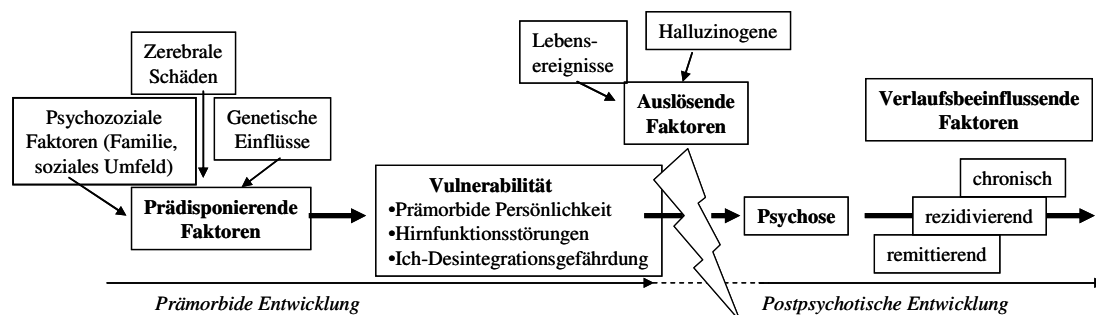


Abbildung 1: Multifaktorielles Entstehungsmodell (nach Möller et al., 2009)

Den genetischen Einflüssen wird dabei besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Anhand von Zwillingsstudien konnte bereits festgestellt werden, dass genetische Grundstrukturen einen starken Einfluss als prädisponierende Faktoren haben (Cardno und Gottesman, 2000; Sullivan et al., 2003). Fast 80% der Schizophrenien lassen einen solchen Einfluss erkennen. Durch diese Erkenntnis wurden mittlerweile zahlreiche Untersuchungen, insbesondere zu Risikogenen, durchgeführt. Dass der Schizophrenie verschiedene Risikogene zugrunde liegen, also verschiedene Genabschnitte, die ihren Träger für diese Erkrankung prädisponieren, konnte dabei bereits in einigen Studien gezeigt werden (vgl. Überblicksartikel von Owen et al., 2010).

Bestimmte Funktionsverluste, die mit der Krankheit einhergehen können, sind oft schon in Prodromalstadien (Simon et al., 2007) oder auch bei Verwandten (Dickinson et al., 2007) von Patienten erkennbar. Dies bestärkt zusätzlich die These einer starken genetischen Komponente bei der Beteiligung an der Ätiopathogenese. Seit einigen Jahren wird zudem beschrieben, dass bestimmte Gehirnareale bei schizophrenen Patienten anders miteinander interagieren als dies bei Gesunden der Fall ist. Besonders deutlich wird diese Vermutung in Bezug auf den dorsolateralen

Präfrontalkortex (DLPFC) und den Hippocampus (Meyer-Lindenberg et al., 2005). Insbesondere der dorsolaterale Präfrontalkortex ist dabei eng mit dem Arbeitsgedächtnisprozess verknüpft, wodurch bei schizophrenen Patienten typischerweise Störungen in dessen Funktionsabläufen auftreten (Schlosser et al., 2003). Durch den Begriff Schizophrenie (aus dem Griechischen für Zerfahrenheit/Abspaltung der Seele) wird bereits deutlich, dass die Krankheit von einer gestörten Ich-Außen-Grenze gekennzeichnet ist, was anhand der oben beschriebenen Symptome (beispielsweise Gedankeneingebungen oder –entziehungen) nachvollziehbar wird. Es ist deshalb davon auszugehen, dass die Ursachen der Schizophrenie weniger in einzelnen fokalen Hirnläsionen zu finden sind, sondern dass vor allem Verschaltungen und Interaktionen zwischen Hirnregionen eine „Abspaltung“ oder auch „Trennung“ auf neuronaler Ebene erkennen lassen, die sich dann komplex auf das Krankheitsbild auswirkt. Diese Vorstellung geht teilweise bis auf Carl Wernicke zurück, der 1874 in seinem Buch „Der aphasische Symptomenkomplex. Eine psychologische Studie“ beschrieb, dass „alles, was über die einfachsten Funktionen hinausgeht, die Verknüpfung verschiedener Eindrücke zu einem Begriff, das Denken, das Bewusstsein, [...] eine Leistung der Fasermassen (ist), welche die verschiedenen Stellen der Großhirnrinde miteinander verknüpfen [...]“ (Oeser, 2002). Folglich ergibt sich die Idee, dass Störungen im Denken aus gestörten Verbindungen resultieren müssen. Durch zahlreiche Untersuchungen können mittlerweile zunehmend mehr Erkenntnisse über diese These gewonnen werden. Stephan und Kollegen (2009) haben sich eingehend mit dieser Thematik auseinandergesetzt. Sie gehen davon aus, dass diese „Abspaltung“ mit abnormalen Interaktionen und gestörten Aktivierungen einzelner Hirnareale zusammenhängt, so dass diese nicht mehr adäquat miteinander interagieren können. Sie sprechen daher auch von Dyskonnektivität im Sinne einer gestörten Verbindung und Zusammenarbeit verschiedener Hirnregionen (Stephan et al., 2009).

Diese Dyskonnektivität erweist sich also als ein bedeutendes Phänomen der Schizophrenie. Es ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, mithilfe derer die Ursachenfrage geklärt werden soll.

2.1.2 Bipolare Störung

Die Bipolare Störung, auch als manisch-depressive Störung bezeichnet, gehört neben der endogenen Depression und der unipolaren Manie zur Gruppe der affektiven Psychosen (Gleixner et al., 2011). Innerhalb dieser beträgt ihr Anteil ungefähr 20%. Das Risiko, im Laufe seines Lebens an einer affektiven Psychose zu erkranken, ist relativ groß. Es liegt bei 20%, jeder fünfte ist also im Laufe seines Lebens wenigstens einmal davon betroffen, wobei der Erkrankungsgipfel zwischen dem 20. und dem 40. Lebensjahr angesiedelt ist. Die genaue Entstehung dieser Erkrankung ist ähnlich wie bei der Schizophrenie noch unklar. Auch hier scheint die Ausprägung multifaktoriell bedingt zu sein, wobei durchaus auch eine genetische Komponente vorhanden ist. Dementsprechend steigt das Erkrankungsrisiko erheblich an, besonders wenn nahe Verwandte (Eltern oder Geschwister) betroffen sind. Bei Zwillingen beläuft sich diese Wahrscheinlichkeit bis auf 70%.

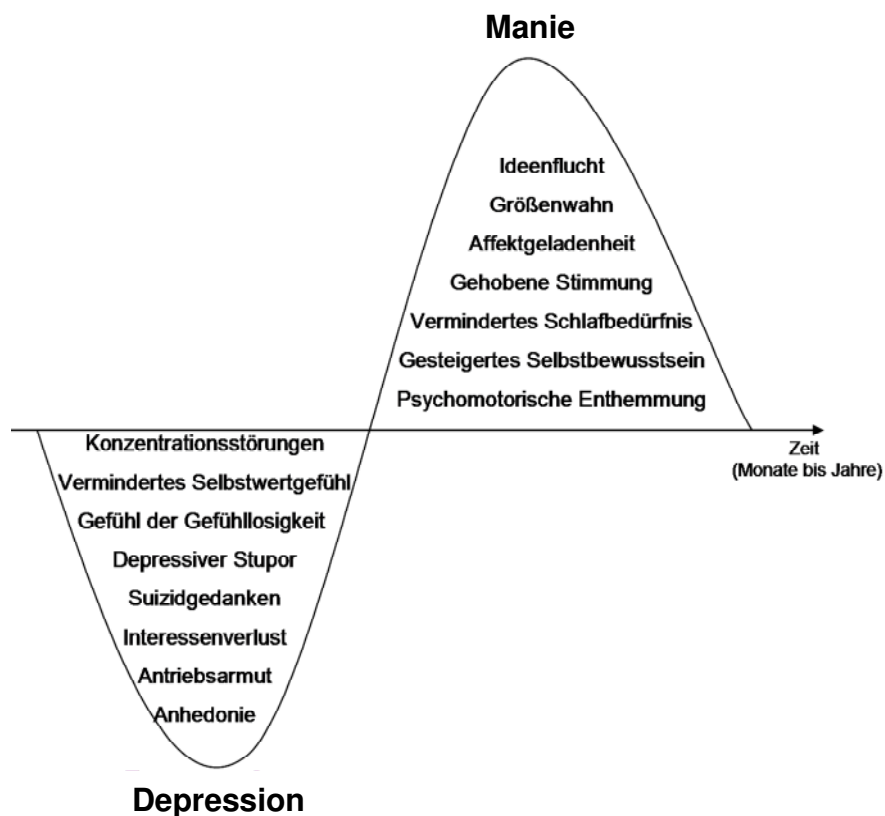


Abbildung 2: Biphasischer Verlauf des Krankheitsbildes der Bipolaren Störung. Typisch sind die völlig entgegengesetzten Symptome in den verschiedenen Krankheitsphasen.

Charakteristisch für die Erkrankung ist der biphasische Verlauf einer bipolar affektiven Störung. Phasen tiefer Depression und Melancholie wechseln in unvorhersehbaren Abständen mit Phasen der Manie und des Hochgefühls. Typische Symptome, die charakteristisch für die jeweilige Krankheitsphase sind, werden in Abbildung 2 ersichtlich.

Auch diese Erkrankung konnte bereits mit einigen Risikogenen in Verbindung gebracht werden (vgl. Überblicksartikel von Barnett und Smoller, 2009). Dennoch liegt die genaue Bedeutung der Risikogene für die exakte Entstehung und Ausprägung der Erkrankung weiterhin noch im Unklaren. Sicher ist jedoch, dass man mittlerweile mithilfe des Ansatzes der sogenannten genetischen Bildgebung („imaging genetics“) sowohl für die Bipolare Störung als auch für die Schizophrenie zumindest neurophysiologische und morphometrische Hinweise auf die Auswirkung solcher Gene erhalten kann.

2.2 Genetische Bildgebung

Die genetische Bildgebung stellt einen Versuch dar, gestörte Prozesse im Gehirn mit geeigneten Methoden offen zu legen. Abnormale Funktionsabläufe und Verbindungen von Gehirnarealen sollen dabei mit den Ausprägungen eines Risikogens in Verbindung gebracht werden (Meyer-Lindenberg, 2009). Man erhofft sich damit, Aussagen über einen genetischen Einfluss auf die Ausprägung und Entwicklung einer bestimmten Erkrankung machen zu können. Indem man mithilfe verschiedener bildgebender und analytischer Verfahren ein Gehirn sowohl strukturell als auch funktionell untersucht, können die Auswirkungen der Gene im Gehirn sichtbar gemacht und damit pathologische Veränderungen, die einer Krankheit zugrunde liegen, festgestellt werden.

Seit einiger Zeit wird in diesem Zusammenhang der Begriff „intermediärer Phänotyp“ verwendet, welcher eben diese Ausprägung einer genetischen Risikovariante auf Ebene des Gehirns beschreiben soll (Meyer-Lindenberg und Weinberger, 2006). Das Konzept des intermediären Phänotyps versucht aber nicht nur, die Einflüsse schon vorhandener Risikogene zu identifizieren. Auch Rückschlüsse auf bestimmte Gene, ausgehend von im Gehirn auftretenden morphologischen und funktionellen Störungen, sind möglich. So gewinnt dieser Ansatz vor allem in der Ursachenforschung bestimmter Erkrankungen eine grundlegende Bedeutung.

Wie der Abbildung 3 entnommen werden kann, hat dies zur Folge, dass Untersuchungen und Studien auf zwei Arten durchgeführt werden können. Erhält man durch genetische Untersuchungen ein Risikogen und versucht dessen Einfluss auf neuronaler Ebene zu erforschen, so spricht man vom sogenannten „Bottom-up-Ansatz“.

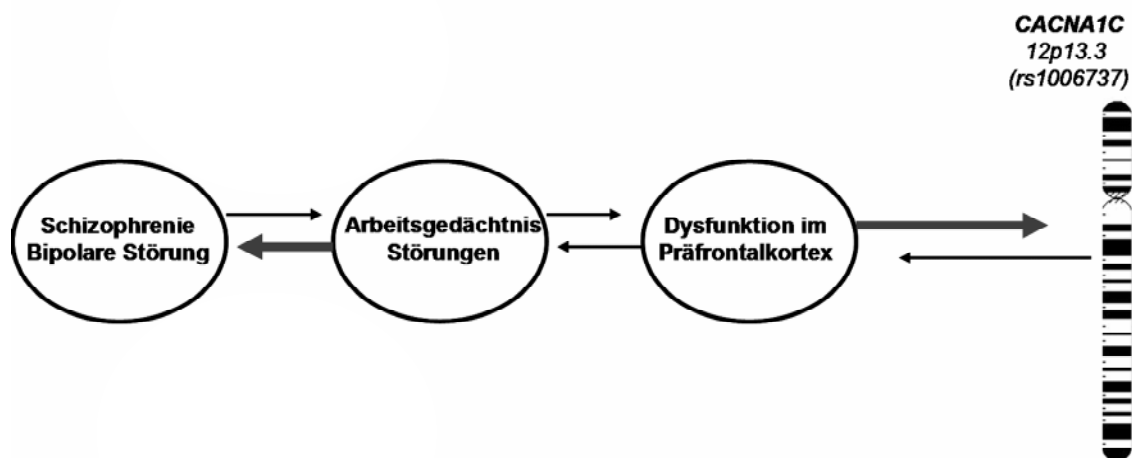


Abbildung 3: Das Konzept des „intermediären Phänotyps“ kann Aufschluss in beide Richtungen geben. Liegt eine Krankheit wie Schizophrenie oder Bipolare Störung vor, so lassen sich oftmals Störungen im Arbeitsgedächtnis vorfinden. Die Funktionsstörungen sind typischerweise im Präfrontalkortex deutlich zu erkennen. Da das Auftreten dieser Funktionsstörungen mit dem Risikoallel rs1006737 des Gens CACNA1C assoziiert ist, kann hier eine Verbindung zwischen Risikogen und Erkrankung hergestellt werden. Das gleiche Prinzip lässt sich auch mit dem Risikogen als Ausgangspunkt anwenden, so dass Aufschlüsse in beide Richtungen möglich sind.

Auch von der Untersuchung erkrankter Personen auf bestimmte Funktionsveränderungen im Gehirn erhofft man, Aufschlüsse über intermediäre Phänotypen zu erhalten. Dieser Ansatz, bei dem die Krankheit zugrunde liegt, wird als „Top-down-Ansatz“ bezeichnet. Wie es Meyer-Lindenberg ausdrückt, kann das Konzept des intermediären Phänotyps also dazu beitragen, die bislang oft ungeklärte Kluft zwischen

DNA-Sequenzen (Genen) und pathologischen Verhaltensmustern zu verringern (Meyer-Lindenberg, 2009).

Diese Möglichkeit bringt einige Vorteile mit sich. Da sich genetische Störungen nicht sofort in bestimmten Verhaltensauffälligkeiten einer Person ausdrücken, sondern sich anfangs meist erst auf biologischer und neuronaler Ebene abspielen, kann durch die genetische Bildgebung ein Beitrag dahingehend geleistet werden, den Weg vom Gen zur Krankheit besser nachvollziehen und früher erkennen zu können. Eventuell lassen sich so zukünftig Aussagen über Erkrankungsrisiken treffen, die mit einer bestimmten genetischen Ausprägung korrelieren. Spekulativ könnten sich hier aus klinischer Sicht beispielsweise Verbesserungen von Interventionsmöglichkeiten mithilfe therapeutischer Maßnahmen ergeben, welche unter Umständen die Krankheit hinauszögern oder aufhalten könnten.

In dieser Arbeit wird der Bottom-up-Ansatz verfolgt. Es soll untersucht werden, welchen Einfluss der bereits bekannte Risikogenabschnitt rs1006737 im *CACNA1C* Gen auf Hirnfunktionsabläufe ausübt. Mittlerweile gibt es zahlreiche Methoden, mit deren Hilfe das „Sichtbarmachen“ dieses Einflusses gelingen soll. Diese sind auch für die vorliegende Arbeit von Relevanz und sollen im Folgenden näher beleuchtet werden.

2.3 Funktionelle Magnetresonanztomographie

Eine Methode, die einen besonderen Beitrag zum Imaging Genetics-Konzept leistet, ist die sogenannte funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT), die auch in dieser Studie Anwendung findet. Im folgenden Abschnitt sollen zunächst die physikalischen Hintergründe der MRT-Technik vorgestellt werden. Im Anschluss daran wird näher erläutert, wie es mithilfe der fMRT möglich ist, neurologische Prozesse im Gehirn zu untersuchen.

Überblick

Die Forschung über neurologische Prozesse kann heute mit verschiedenen Methoden und Hilfsmitteln erfolgen. Mittlerweile stehen der Hirnforschung einige bedeutende Mittel zur Verfügung, um Kenntnisse über intrazerebrale Funktionen und Strukturen zu gewinnen. Zu diesen Bildgebungstechniken zählen beispielsweise Verfahren wie Positronenemissionstomographie, Einzelphotonen-Emissionstomographie, Elektro-

enzephalographie, Magnetenzephalographie und einige mehr. Die Methode, der in dieser Arbeit die größte Bedeutung zugemessen wird, ist die funktionelle Magnetresonanztomographie. Nicht zuletzt wegen ihrer guten räumlichen Auflösung und der Nicht-Invasivität des Verfahrens zeichnet sie sich für die hier durchgeführte Studie besonders aus. Im Folgenden wird ein kurzer Überblick über das Funktionsprinzip der Technik und die Grundlagen der Datenanalyse gegeben.

Grundlagen der Magnetresonanztomographie

Die Grundidee der Magnetresonanztomographie basiert auf dem Phänomen der Kernspinresonanz, für deren Entdeckung und Beschreibung Felix Bloch und Edward Purcell im Jahre 1953 den Nobelpreis bekamen¹. Atomkerne haben durch den Eigendrehimpuls ihrer Neutronen und Protonen einen magnetisch wirksamen Drehimpuls, den so genannten Kernspin (siehe Abb. 4). Voraussetzung für die Kernspinresonanz ist ein Kernspin ungleich Null, was zum Beispiel für Wasserstoff (H) zutrifft. Da der menschliche Körper zum Großteil aus Wasser (H₂O) besteht, können diese H-Atome zur Bildgebung in der MRT eingesetzt werden.

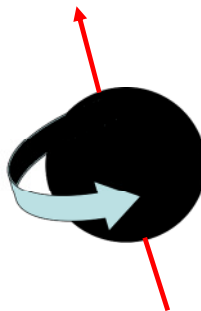


Abbildung 4: Eigendrehimpuls eines Wasserstoffatomkerns entlang einer Achse (rot), der sogenannte Spin.

Dabei werden die Protonen mit ihrem magnetischen Feld als Stabmagneten angesehen. Legt man ein Magnetfeld B_0 von außen an, richten sie sich parallel oder antiparallel nach dessen Feldlinien aus, was ohne Magnetisierung nicht stattfinden würde (siehe Abb. 5). Daraus ergeben sich die im MRT üblichen Achsenbezeichnungen x, y und z.

¹ Weitere Informationen: "The Nobel Prize in Physics 1952". Nobelprize.org. Nobel Media AB 2013. Web. 10 Nov 2013. <http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1952/>

Da sich mehr magnetische Momente parallel als antiparallel ausrichten, kommt es zu einer Summenmagnetisierung, auch Längsmagnetisierung genannt. Dies wiederum führt dazu, dass der Bereich, in dem sich die Wasserstoffprotonen ausrichten, magnetisiert erscheint (siehe Abb. 6).

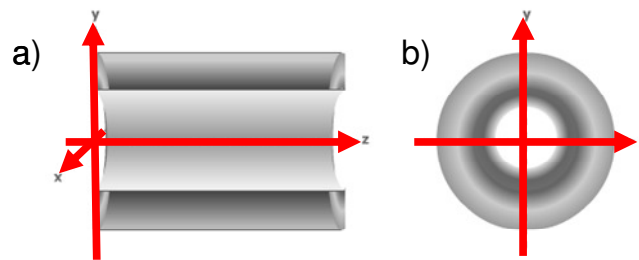


Abbildung 5: Achsenbezeichnungen im MRT. a) Das Hauptmagnetfeld B_0 liegt auf der z-Achse. b) Der Eigendrehimpuls der Protonen (Kernspin) läuft in der xy-Ebene ab und richtet sich durch die Einwirkung des Magnetfeldes B_0 auch in z-Richtung aus (nach Pabst, 2006).

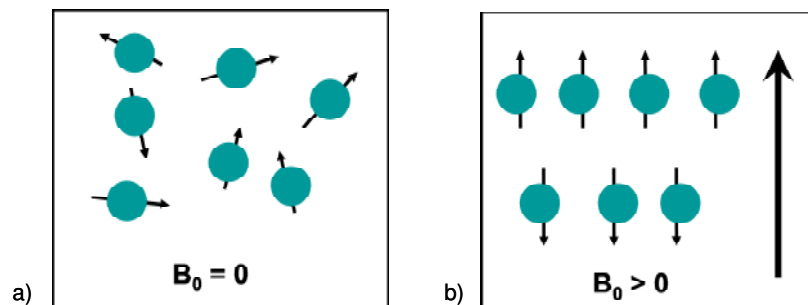


Abbildung 6: Ausrichtung der Wasserstoffatome beim Anlegen eines Magnetfeldes. a) Ohne äußeres Magnetfeld ($B_0 = 0$) drehen sich die Spins in verschiedene beliebige Richtungen. b) Durch den Einfluss eines äußeren Magnetfeldes ($B_0 > 0$) richten sie sich parallel oder antiparallel aus, wobei die parallele Richtung bevorzugt wird (nach Jansen 2004).

Bei der Ausrichtung zum Magnetfeld bewegen sich die meisten Protonen kreiselförmig um ihre Rotationsachse, die der Richtung des Magnetfeldes entspricht (parallel oder antiparallel). Diese Bewegung, die mit der sogenannten Larmorfrequenz ω_0 ausgeführt wird, bezeichnet man als Präzessionsbewegung. Das heißt, die Protonen präzedieren

mit ihrer Rotationsachse immer näher an die Ausrichtung der Magnetfeldlinien heran. Abhängig von der Stärke (Einheit Tesla) des äußeren Magnetfeldes ändert sich die Larmorfrequenz ω_0 und die Geschwindigkeit, mit der diese Präzession erreicht wird. Protonen der Wasserstoffatome schwingen normalerweise mit einer Frequenz von 42.58 MHz/Tesla. Dieser Wert nennt sich gyromagnetische Konstante und ist charakteristisch für jedes Element.

Eine Ausrichtung der Spins, die zum externen Magnetfeld parallel oder antiparallel verläuft, lässt sich physikalisch nicht messen, da sie vom äußeren Magnetfeld nicht zu unterscheiden ist. Die Richtungspfeile der Protonen sind kohärent (phasengleich) mit dem Vektor des Magnetfeldes. Deshalb ist ein zweiter Gradient erforderlich, der senkrecht zum angelegten Magnetfeld liegen muss. Dabei werden die Protonen durch einen Hochfrequenzimpuls (HF-Impuls), der die gleiche Frequenz wie die Larmorfrequenz ω_0 haben muss, in ihrer Ausrichtung verändert. Dieses Phänomen bezeichnet man auch als Synchronisation. Durch den Impuls werden einige Protonen um 180° gekippt (antiparallele Ausrichtung), was zur Folge hat, dass sich der magnetische Richtungsvektor, den die Protonen erzeugen, verändert. Er kippt in die xy-Ebene. Es ergibt sich also eine Transversalmagnetisierung, die von der Richtung des Magnetfeldes abweicht. Sie ist abhängig von der Stärke und der Dauer, mit welcher der Hochfrequenzimpuls angewandt wird. Ein HF-Impuls wird als 90-Grad-Impuls bezeichnet, wenn er den magnetischen Richtungsvektor um 90° umklappt.

Nach der Synchronisation verlieren die Protonen nach und nach ihre Phasengleichheit und dephasieren, das heißt sie fallen wieder zurück in die vorgegebene Richtung des Hauptmagnetfeldes (z-Achse), was durch die Änderung des Magnetfeldes in einer Spule eine Induktionsspannung induziert. Letztere kann schließlich als MR-Signal gemessen werden. Um ein Gehirn zu untersuchen, werden wiederholt Anregungsimpulse nach bestimmten Mustern gesendet. Wichtige Kenngrößen sind hierbei die Repetitionszeit TR („time to repeat“) und die Echozeit TE („time to echo“). TR gibt an, wieviel Zeit zwischen zwei Anregungsimpulsen vergeht. TE beschreibt die Zeit zwischen Anregung (Protonen in Phase) und Messung des Signals.

Die Datengewinnung im MRT erfolgt in Schichten, die nacheinander aufgenommen werden. Zu diesem Zweck ist es zusätzlich nötig, einen z-Gradienten über das Hauptmagnetfeld B_0 zu legen. Dieser bewirkt, dass sich das Magnetfeld inhomogen verteilt und nach unten hin abfällt. Er ist bestimmend für die Schichtdicke. Durch den z-Gradienten verändert sich auch die Larmorfrequenz ω_0 , denn diese ist abhängig vom

Magnetfeld (B_0 + z-Gradient). Jede Schicht hat somit ihre eigene spezifische Frequenz. Weitere Gradienten ermöglichen eine dreidimensionale Aufnahme des Gehirns. Diese können zusätzlich zum z-Gradienten und HF-Impuls bestimmte Orte kodieren. Der x-Gradient ist für die Frequenzkodierung zuständig, der y-Gradient für die Phasenkodierung. So erhält man am Ende einen Satz von Rohdaten mit dreidimensionalem Charakter, der als K-Raum bezeichnet wird (siehe Abb. 7). Allgemein lässt sich festhalten, dass die zentralen Daten des K-Raums Informationen über den groben Kontrast beinhalten und nach außen hin eher Aufschluss über Details geben. Nach diesem Schritt werden die Daten mithilfe einer Fouriertransformation in ein zweidimensionales Bild umgewandelt (vergleiche Abb. 8).

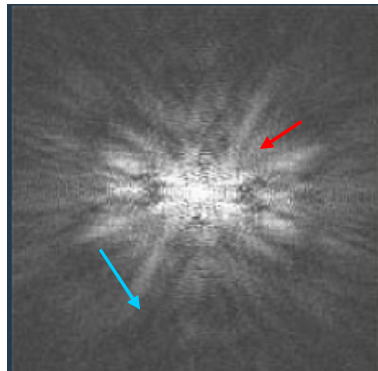


Abbildung 7: Der K-Raum (nach Pabst, 2006). Im Zentrum befinden sich Informationen über Helligkeitskontraste (roter Pfeil). Nach außen hingegen findet man Informationen über Details wie zum Beispiel Ecken, Kanten, Kurven (blauer Pfeil).

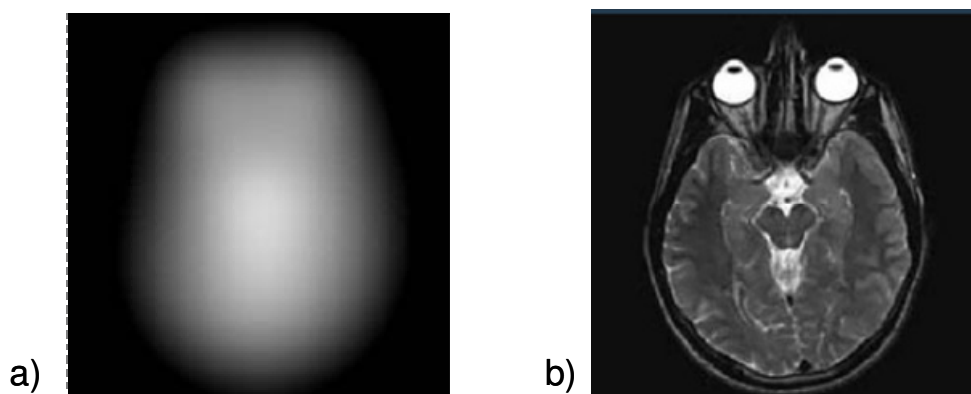


Abbildung 8: a) Zweidimensionales Bild aus den zentralen Daten des K-Raums nach Fouriertransformation. b) Detailreiches Bild nach Fouriertransformation mit zusätzlichen Informationen aus dem peripheren K-Raum (nach Pabst, 2006).

Funktionelle Magnetresonanztomographie (fMRT)

Unter der funktionellen Magnetresonanztomographie versteht man eine Methode, mit der man Gehirnregionen in ihrer Funktionalität bildhaft darstellen kann. Etwa seit 1992 werden mit dem funktionellen MRT Untersuchungen der Gehirnfunktionen durchgeführt und überprüft. Das Prinzip dieser Methode beruht auf der Registrierung von Änderungen des Blutsauerstoffgehalts und des Blutvolumens (Horwitz et al., 2000). Diese Veränderungen kommen durch verschiedene neuronale Aktivitätsgrade zustande, welche dafür sorgen, dass in ihrer Umgebung vermehrt ein für ihre Leistung benötigtes sauerstoffreiches Blut zur Verfügung steht. Bereits 1890 beschrieben Roy und Sherrington in diversen Experimenten, wie stark sowohl die neuronale Aktivität als auch das Volumen des Gehirns vom zerebralen Blutfluss beeinflusst wird (Roy und Sherrington, 1890).

Bei der fMRT handelt es sich nun um eine Methode, die eben diese Änderungen in der Durchblutung und damit in der Oxygenierung der grauen Substanz misst. Sie erlaubt dadurch Rückschlüsse auf die neuronale Aktivität in verschiedenen Arealen. Das Prinzip besteht darin, dass Desoxyhämoglobin aufgrund seiner vier ungepaarten Elektronen paramagnetische Wirkung zeigt, während Oxyhämoglobin keinerlei Einfluss auf die Signalintensität hat und somit diamagnetisch ist (Pauling und Coryell, 1936). Diese unterschiedlichen magnetischen Eigenschaften lassen sich mit sog. T2* gewichteten Gradienten-Echo-Sequenzen im fMRT darstellen, denn der paramagnetische Effekt von Desoxyhämoglobin bewirkt eine beschleunigte Transversalrelaxation. Aber auch der Verlust der Phasengleichheit der Protonen aus den Kapillaren des Hirngefäßbettes und dessen umgebendem Gewebe kann eine Folge sein. So führt ein ansteigender Desoxyhämoglobingehalt letztlich zu einem Absinken der Signalintensität. Da Desoxyhämoglobin vor allem im venösen Blutstrom in hoher Konzentration vorhanden ist, kann seine Eigenschaft durch Variationen im Sauerstoffbedarf (Blutfluss) und in der Sauerstoffnutzung (Gewebemetabolismus) als natürliches Kontrastmittel in der MR-Bildgebung genutzt werden.

BOLD-Effekt

Die mit kortikaler Aktivität verbundenen Änderungen in der Oxygenierung des Blutes können also durch die magnetischen Eigenschaften des Hämoglobins veranschaulicht werden. Dieser Effekt ist auch als BOLD-Effekt („blood-oxygen-level-dependent“) bekannt. Erstmals wurde dieser von Ogawa und Kollegen beschrieben. Im Zuge ihrer

Untersuchung fanden sie heraus, dass sauerstoffreiches Blut keinen Effekt im MR-Bild zeigt, dass jedoch desoxygeniertes Blut in den venösen Gefäßen Streifen auf dem MR-Bild hinterlässt (Ogawa et al., 1990).

Da bei aktivierten Hirnregionen eine größere Sauerstoffzufuhr bereitgestellt wird, im Gegensatz dazu jedoch letztendlich weniger vom Gewebe verbraucht wird, sinkt dort der Desoxyhämoglobingehalt und das oxygenierte Hämoglobin steigt an (siehe Abb. 9). Das daraus resultierende Signal, welches sich mithilfe des MR-Tomographen messen lässt, nennt man BOLD-Signal.

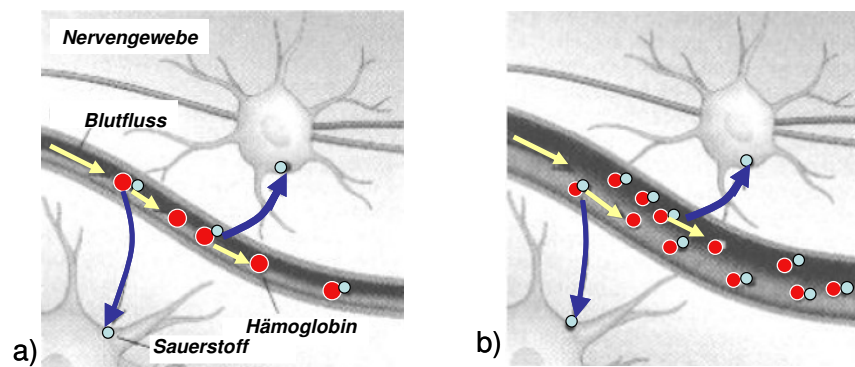


Abbildung 9: a) Zerebraler Blutfluss in Ruhe, dabei Abgabe von Sauerstoff ans Gewebe. b) Bei vermehrter Aktivität nimmt der Blutfluss stark zu, der Sauerstoffbedarf steigt jedoch nur leicht. Folglich steigt regional die Sauerstoffbereitstellung im Blut, was ein Signal im fMRT auslöst (nach Wolf, 2008).

Abbildung 10 veranschaulicht graphisch den BOLD-Effekt, indem sie den Verlauf der hämodynamischen Antwort auf einen Stimulus zeigt. Der Blutfluss erreicht nach circa 5 Sekunden sein Maximum. Während die hämodynamische Antwort nach einem Stimulus also im Sekundenbereich liegt, ist die Aktivität der Neuronen innerhalb von Millisekunden gegeben und geht somit der hämodynamischen Antwort voraus.

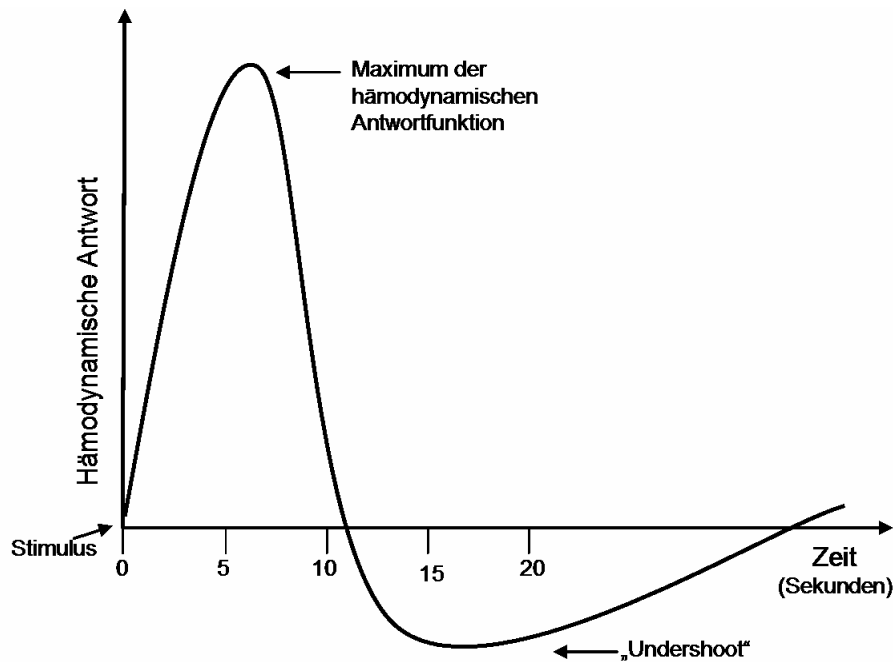


Abbildung 10: Die hämodynamische Antwortfunktion zeigt sich als Kurve, die in ihrem Verlauf bei Einsetzen des Stimulus zunächst rapide ansteigt. Nach Erreichen des Maximums fällt sie in ähnlicher Zeit wieder ab und unterschreitet dabei für wenige Sekunden ihren Ausgangswert („Undershoot“).

2.4 Statistische Bildverarbeitung mit SPM

fMRT-Daten werden normalerweise mit einer extra dafür geschaffenen Software weiterverarbeitet. In der vorliegenden Arbeit wurde hierfür das Programm „Statistical Parametric Mapping“ (SPM) in der Version SPM5 verwendet (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/). Mit diesem Programm lassen sich Hypothesen testen, inwieweit bestimmte Hirnareale durch bestimmte Aufgaben aktiviert werden und ob diese Aktivierung sich beispielsweise bei genetisch unterschiedlich geprägten Personengruppen voneinander unterscheidet.

Die Analyse der Daten kann grob in zwei Schritte eingeteilt werden. Zunächst erfolgt die räumliche Vorverarbeitung. In einem zweiten Schritt wird die statistische Analyse vorgenommen.

2.4.1 Räumliche Vorverarbeitung

Nachdem die Datensätze jedes einzelnen Probanden nach der Messung zunächst auf Vollständigkeit überprüft und technische Fehler ausgeschlossen werden, erfolgt am Anfang jeder Datenauswertung die Vorverarbeitung („preprocessing“) der fMRT-Daten. Die Vorverarbeitung der Daten besteht aus mehreren Schritten: einer zeitlichen Anpassung der einzelnen Schichten, einer Bewegungskorrektur, einer Transformation auf ein Standardgehirn und einer abschließenden Glättung der Bilddaten.

Zeitliche Vorverarbeitung

Zu Beginn erfolgt eine zeitliche Korrektur. Bei der Messung werden einzelne Schichten zu unterschiedlichen Zeitpunkten aufgenommen, da diese nicht gleichzeitig gemessen werden können (siehe Abb. 11).

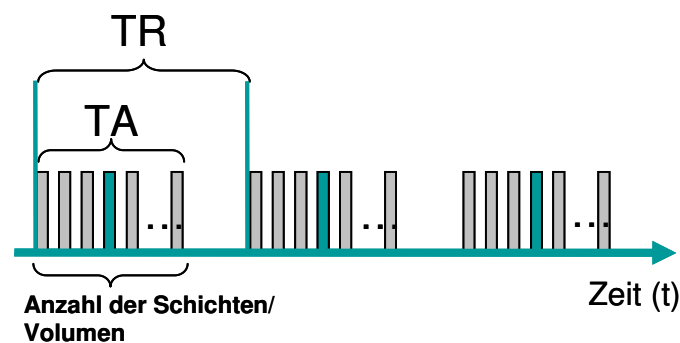


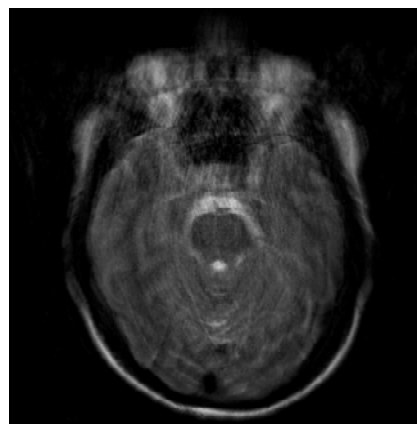
Abbildung 11: Zeitlicher Ablauf der Messung. TA beschreibt die Akquisitionszeit, d.h. die Zeit, die man zum Durchlaufen aller Schichten benötigt. TR beschreibt hingegen das Intervall zwischen den einzelnen Aufnahmen/Scans.

Um darstellen zu können, wo sich eine Schicht zu einem bestimmten Zeitpunkt in ihrer Anregung befindet, müssen die Akquisitionszeiten korrigiert werden. Dies geschieht meist mithilfe einer Referenzschicht, von der ausgehend alle Schichten zeitlich neu eingeordnet werden, so dass man am Ende eine Aussage über die Aktivierung ganz unterschiedlicher Schichten zu einem definierten Zeitpunkt treffen kann. Meist wird dafür eine mittlere Schicht gewählt, da für Schichten mit zunehmender zeitlicher Entfernung auch der sogenannte Interpolationsfehler steigt. Die Schichtaktivierung verschiebt sich somit zeitlich so sehr, dass sich in der späteren Analyse Fehler bezüglich der gleichzeitigen Aktivität ergeben. Man wählt deshalb die mittlere Schicht,

weil die Schichten am Rand oft von untergeordnetem Interesse sind und sich die Regionen von Interesse eher in der Mitte befinden. Bei der zeitlichen Korrektur ist es wichtig, die Reihenfolge einer seriellen Aufnahme zu beachten, zum Beispiel ob von oben nach unten oder abwechselnd jede zweite Schicht aufgenommen wurde, da dies die Akquisitionszeit und die Zeitabfolge für unterschiedliche Schichten beeinflusst.

Bewegungskorrektur

Der nachfolgende Schritt beinhaltet die Bewegungskorrektur. Durch die Bewegung der Probanden im Scanner kommt es während der Messungen immer wieder zu Artefakten. Dies hat drastische Auswirkungen auf die Signalstärke und somit auf die Bildqualität. Zu unterscheiden sind dabei zwei Arten von Bewegungsartefakten. Zum Einen können zufällige oder nicht steuerbare Bewegungen auftreten (beispielsweise der Lidschlag). Zum Anderen können Bewegungen stattfinden, die während der Messung mit dem Stimulus korrelieren (beispielsweise ruckartige Augenbewegungen, leichtes Schütteln des Kopfes, siehe Abb. 12).



Copyright Siemens AG

Abbildung 12: Aufnahme eines Bewegungsartefakts. Häufig treten diese vermehrt bei Stimulus induzierten Bewegungen auf. Probleme ergeben sich dabei vor allem durch die Verschiebungen und Verzerrungen zwischen und innerhalb der einzelnen Schichten.

Eine Herausforderung der Datenanalyse liegt in der Erkennung des eigentlichen Signals. Insbesondere das Bewegungssignal von Stimulus induzierten Bewegungen fließt meist in die physiologischen Signale mit ein, so dass es auch hier schwer wird,

die Artefakte vom tatsächlichen Signal zu unterscheiden. Als Resultate ergeben sich häufig falsch positive Signale. Durch die Bewegungskorrektur versucht man diese Bewegungsartefakte herauszurechnen und zu minimieren, so dass diese möglichst wenig Einfluss auf den Verlauf des BOLD-Signals und den Bildkontrast ausüben.

Trotz der Bewegungskorrektur ergeben sich zahlreiche Probleme. Allein dadurch dass sich der Kopf im Magnetfeld befindet, entsteht dort eine Feldinhomogenität. Diese bewirkt bei kleinsten Bewegungen eine nicht-lineare Verzerrung des Kopfes und damit auch der Aufnahmen. Solche Verzerrungen können nicht durch die in SPM verwendeten Registrierungsmethoden herausgerechnet werden. Die eigentliche Bewegungskorrektur kann durch eine „Rigid-body-Transformation“ erreicht werden. Das bedeutet, dass sechs verschiedene Parameter bestimmt werden, die letztendlich die Übertragung eines Bildes auf ein anderes Bild (Referenzbild) beschreiben können. Dabei wird die Transformation durch Translationen in die x-, y- und z-Richtung und Rotationen um die x-, y- und z-Achsen abgebildet (Abb. 13). Als Referenz wird ein Bild aus der Zeitreihe ausgewählt und alle anderen Bilder werden diesem angeglichen.

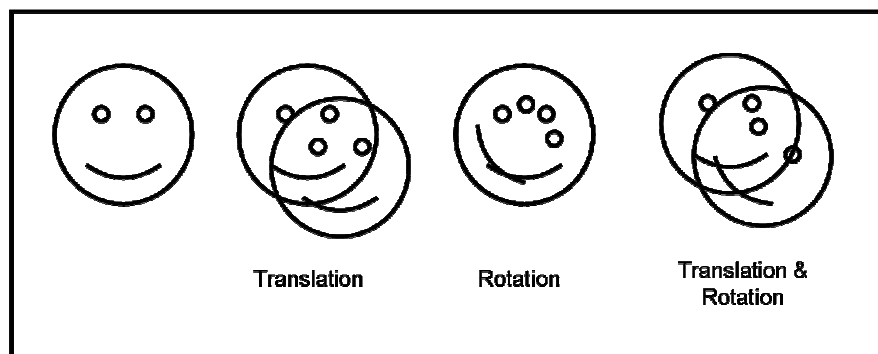


Abbildung 13: Translation und Rotation mit jeweils 3 Freiheitsgraden.

Normalisierung

Dem Schritt der Bewegungskorrektur folgt die Normalisierung. Das Prinzip der Normalisierung ist das folgende: ein Bild wird aus den (bewegungskorrigierten) MR-Bildern ausgewählt und auf ein „Template“, ein Standardgehirn, transformiert. Als Standardgehirn wird meist das sogenannte MNI-Gehirn des Montreal Neurological Institute herangezogen, das in Abbildung 14 zu sehen ist (Evans et al., 1993). Die Transformation besteht dabei aus zwei Anteilen: einer affinen 12-parametrischen Abbildung und einer nicht-linearen Abbildung (siehe Abb. 15). Während die affine Abbildung Größen- und Formunterschiede des gesamten Gehirns anpasst, ändert der

nicht-lineare Anteil zusätzlich auch kleinere Hirnstrukturen („Feinanpassung“). Die Transformation wird anschließend auf alle bewegungskorrigierten MR-Bilder angewendet, so dass nach Normalisierung alle MR-Bilder dem MNI-Gehirn angepasst sind.

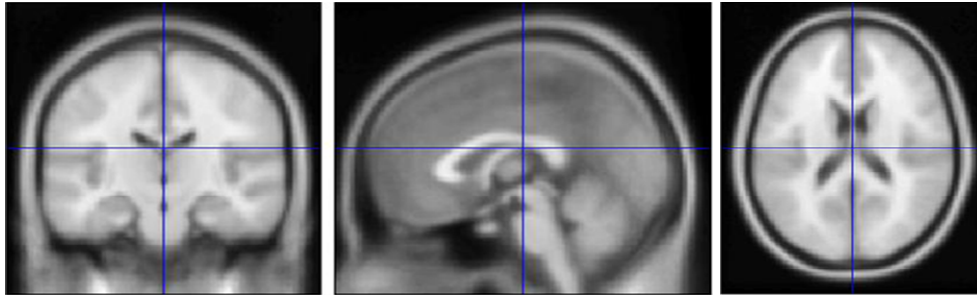


Abbildung 14: MNI-Standardgehirn, auf welches sich die strukturelle Normalisierung bezieht. Es dient der Standardisierung und der Vergleichbarkeit der ausgewerteten fMRT-Daten.

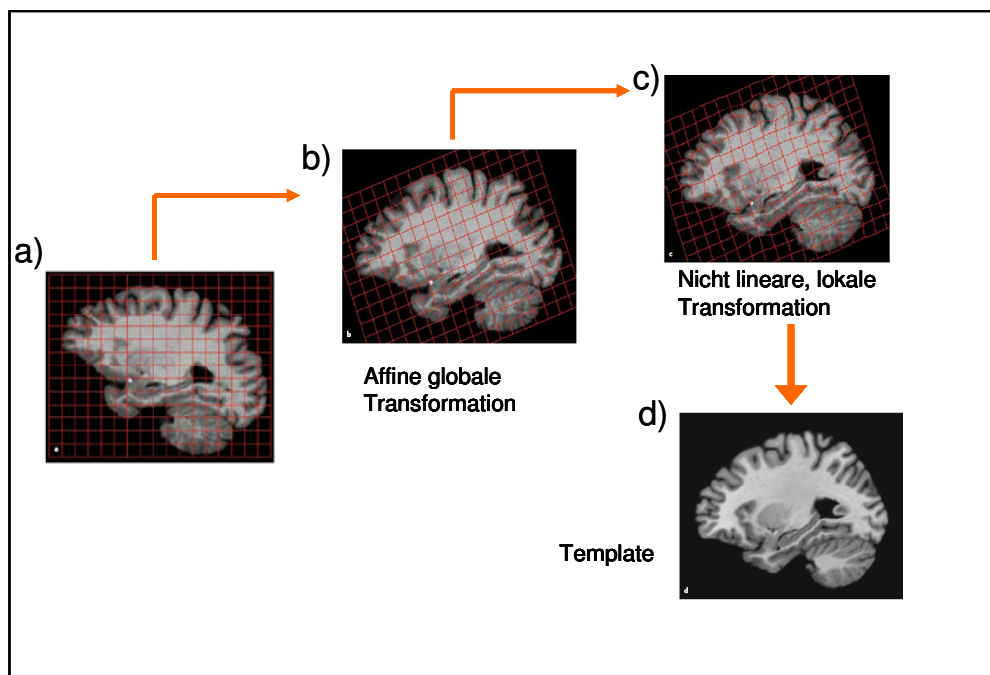


Abbildung 15: Normalisierung: a) Gehirn eines Probanden, b) affine Transformation mit 3 Freiheitsgraden, c) nicht-lineare, lokale Transformation. d) Alle Schritte tragen zur Standardisierung auf ein Template bei (nach Fink und Schneider, 2007).

Glättung

In einem letzten Schritt in der Phase der Vorverarbeitung erfolgt die räumliche Glättung der Bilddaten. Dazu werden die MR-Bilder mit einem Gaußschen Filter geglättet („smoothing“) (Abb. 16). Die Stärke der Glättung wird dabei durch die Halbwertsbreite („full-width-at-half-maximum“, FWHM) der Gaußschen Kurven bestimmt.

Vor der eigentlichen statistischen Analyse kommt zusätzlich ein Hochpass-Filter zum Einsatz. Hierdurch werden niederfrequente Verschiebungen, die beispielsweise durch Erwärmungen der Messspulen zustande kommen können, herausgefiltert. Dies führt zu einer Bereinigung und somit besseren Darstellbarkeit des Hauptsignals.

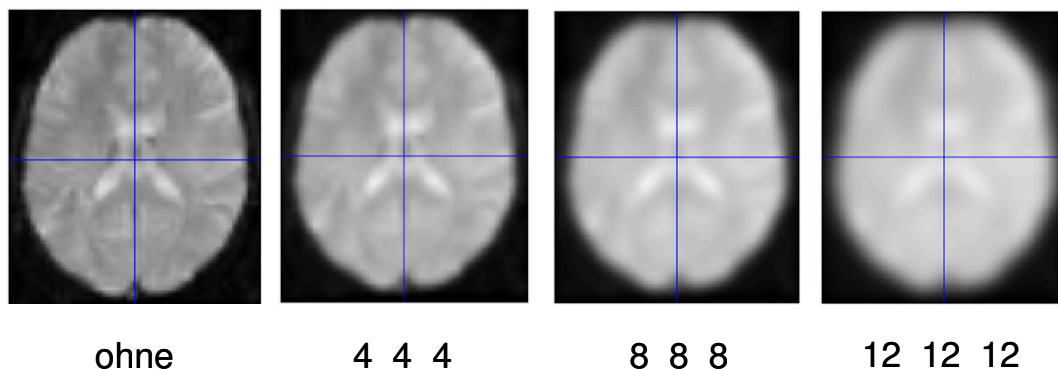


Abbildung 16: Darstellung verschieden stark geglätteter Bilder. Von links nach rechts: ohne Glättung, Glättung mit einem isotropen Gaußschen Kernel der Halbwertsbreite 4 mm, 8 mm und 12 mm.

2.4.2 Statistische Analyse der Daten

Sind die Vorverarbeitungsschritte abgeschlossen, kommt es zur statistischen Auswertung der Daten. Diese kann auf viele verschiedene Arten erfolgen. Außerdem ist sie abhängig von der Zielsetzung der Untersuchung. Wie in den meisten Fällen geht es auch in der vorliegenden Arbeit darum, das zeitliche Verhalten einer physiologischen Größe, dem BOLD-Signal, einer anatomischen Struktur zuzuordnen und somit Aussagen über die Aktivierung von Gehirnarealen zu treffen.

Ziel der Analyse ist es, am Ende eine Karte statistischer Werte für jeden einzelnen Voxel im Gehirn zu erhalten. Diese statistischen Werte beinhalten das BOLD-Signal für

diesen Voxel in Abhängigkeit der Zeit (Zeitreihe) und stehen im Verhältnis zu dem BOLD-Signal, das man in Ruhe (Baseline) misst. Keine Änderungen in der BOLD-Antwort stimmen mit der sogenannten Null-Hypothese überein und erhalten einen hohen p-Wert. Die Null-Hypothese besagt, dass keine signifikanten Änderungen im Signalverlauf zu erkennen sind. Wenn jedoch die Antwort deutlich verändert ist, wird die Null-Hypothese verworfen und man kann annehmen, dass dieser Voxel deutlich aktiviert ist. Dieser erhält dann meist einen p-Wert $p < 0.05$. Anders ausgedrückt bedeutet dies, dass der Voxel mit einer Wahrscheinlichkeit von mehr als 95% als aktiviert gilt.

Die statistische Erstellung einer solchen Karte erfolgt meist mit dem Allgemeinen Linearen Modell (GLM). Dieses umfasst mehrere Methoden, mithilfe derer man die Daten auswerten kann. Es kann durch die Gleichung

$$Y = X\beta + \varepsilon$$

ausgedrückt werden. Dabei beschreibt Y die abhängige Variable, die von der unabhängigen Variablen X mit einem für diese Variable speziellen Parameter β beeinflusst wird. ε beschreibt eine Fehlerkonstante, die zusätzlich mit einberechnet werden muss (vgl. Friston et al., 2007).

Statt einer einzigen Variablen kann eine Vielzahl von unterschiedlichen Variablen in die statistische Auswertung mit einbezogen werden. Diese werden als Covariaten bezeichnet und sollen helfen, die Variable Y besser zu beschreiben. Alle diese Covariaten werden in einem Modell zusammengefasst, welches sich Designmatrix nennt. In diesem Modell können die β -Werte für die einzelnen unabhängigen Variablen geschätzt werden. Entspricht Y der BOLD-Antwort im Verlauf der Zeit in einem Voxel und X beispielsweise einer Aufgabe, die während dieser Zeit ausgeführt wird, so beschreibt β den Zusammenhang, den diese Aufgabe mit der Zeitreihe besitzt.

Aus diesen β -Parametern können unterschiedliche Karten berechnet werden, je nachdem welche statistische Analyse verwendet wird. Diese verbinden die Informationen zum Stärkegrad der Aktivierung mit den Informationen zum zeitlichen Ablauf der Signaländerung.

Statistische Inferenz

Um die Differenz zwischen einer Aktivierung und der Baseline zu erhalten, wird in SPM jeder einzelne Voxel getestet. Nach der statistischen Auswertung der Daten gibt es

also eine große Anzahl von Voxeln mit vielen verschiedenen statistischen Werten. Angenommen das Gehirn setzt sich aus 100.000 Voxeln zusammen, dann würden bei einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$ schon circa 5000 aller Voxel als falsch positiv angezeigt werden. Man spricht hier vom „Problem der multiplen Testungen“ (Friston et al., 2007). Ein p-Wert von $p < 0.05$ ist in diesem Fall zu liberal. Es muss eine Korrektur des p-Wertes erfolgen, um den Mehrfachtestungen Rechnung zu tragen.

Eine Möglichkeit, bei statistischen Mehrfachtestungen den p-Wert zu korrigieren, ist die sogenannte Bonferroni-Korrektur. Hierbei wird das angelegte Signifikanzniveau, das zuvor für jeden Voxel bei $p < 0.05$ lag, durch die Anzahl aller Voxel geteilt. Das bedeutet, dass die Signifikanzschwelle steigt und es schwerer wird, diese zu überschreiten. Die Bonferroni-Korrektur geht jedoch von der Annahme aus, dass die einzelnen Tests unabhängig voneinander sind, was aufgrund der räumlichen Korrelation der Daten nicht der Fall ist. Insgesamt führt dies dazu, dass die Korrektur zu konservativ ist.

Einen anderen Ansatz verfolgt die Feldtheorie nach Gaußscher Normalverteilung („gaussian random field theory“, GRFT). Diese berücksichtigt die räumliche Verteilung von aktivierten Voxeln im Sinne der Gaußschen Normalverteilung. Mit Hilfe der GRFT ist es möglich, unter Berücksichtigung der Glätte der Aktivierungskarten einen korrigierten p-Wert zu berechnen. Neben der Bonferroni-Korrektur und der Gaußschen Feldtheorie gibt es weitere Methoden statistische Inferenzen zu bestimmen. Hier sei auf das Buch von Friston und Kollegen (2007) verwiesen.

2.5 Das Arbeitsgedächtnis

Die mit der fMRT gemessene Gehirnaktivität wird typischerweise auf Grundlage einer bestimmten Fragestellung analysiert. Jede Fragestellung zu speziellen Einflüssen und Effekten auf die Aktivität von Gehirnregionen erfordert ein sogenanntes Aktivierungsparadigma, mit welchem die Aktivität bestimmter Areale besonders angeregt wird. Eine solche Fragestellung, in diesem Fall der Einfluss des Gens *CACNA1C* auf die Gehirnaktivität, geht meist mit konkreten Erwartungen darüber einher, welche Bereiche des Gehirns am ehesten von Einflüssen betroffen sein könnten. *CACNA1C* ist ein Risikogen, welches stark mit Schizophrenie assoziiert ist (vgl. Bigos et al., 2010). Aufgrund dessen sind Änderungen in der Gehirnaktivität daher besonders in solchen Hirnarealen zu erwarten, die mit bei schizophrenen Patienten

beeinträchtigten Hirnfunktionen in Verbindung stehen. Eine Hirnfunktion, die stark mit Schizophrenie assoziiert ist, ist das Arbeitsgedächtnis. Welche Rolle dieses im Zusammenhang mit der vorliegenden Untersuchung spielt, soll im Folgenden erörtert werden.

Im Umgang mit Menschen, die an Schizophrenie leiden, fällt deren gestörte Erinnerungs- und Konzentrationsfähigkeit auf. Forschungen und Untersuchungen dazu sind in zweierlei Weise interessant. Die Störung der Kognition bedeutet für die Betroffenen zum Einen eine starke Beeinträchtigung der Lebensqualität (Green, 1996), die neue Behandlungskonzepte erfordert. Zum Anderen bietet dieses Defizit möglicherweise einen Schlüssel, mögliche Ursachen und Gründe für die Entstehung der Schizophrenie herauszufinden.

In der neurokognitiven Wissenschaft werden dazu zahlreiche Gehirnareale und deren Teilbereiche auf Störungen untersucht. Im Rahmen dieser Arbeit beschränke ich mich hingegen auf die Defizite, die im Bereich des Arbeitsgedächtnisses unter Schizophrenie auftreten. Für detaillierte Informationen über die verschiedenen Teilfunktionen des Arbeitsgedächtnisses sei auf den Anhang 8.1 verwiesen.

Der dorsolaterale Präfrontalkortex

Der DLPFC stellt ein Schlüsselareal für die Funktion des Arbeitsgedächtnisses dar. Daher ist es nicht verwunderlich, gerade in diesem Bereich Veränderungen bei Krankheiten wie Schizophrenie und Bipolarer Störung feststellen zu können. Es konnte beispielsweise für die chronische Form der Schizophrenie gezeigt werden, dass der DLPFC an grauer Substanz verliert, es also zu einem neuronalen Rückgang kommt (Ellison-Wright et al., 2008). Außerdem zeigen Tests im Zusammenhang mit Aufgaben, die das Arbeitsgedächtnis beanspruchen, gerade bei schizophrenen Patienten Aktivierungs- und Konnektivitätsveränderungen im DLPFC (Barch et al., 2003; Carter et al., 1998; Meyer-Lindenberg et al., 2001; Perlstein et al., 2003).

Auch wenn gesichert zu sein scheint, dass die Funktion des DLPFC bei Patienten mit Schizophrenie verändert ist, sind die Ergebnisse bildgebender Studien in Bezug auf die Art der Änderung widersprüchlich. Einige Studien weisen auf eine verminderte („Hypofrontalität“), andere auf eine erhöhte Aktivierung bei Patienten mit Schizophrenie („Hyperfrontalität“) hin. So zeigten Carter und Kollegen auf, dass bei zunehmender Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses eine verminderte Aktivität des DLPFC vorzufinden ist. Dieses Phänomen beschreiben sie als einen verlässlichen Befund im

Rahmen der Schizophrenieerkrankung (Carter et al., 1998). Jedoch sind auch gegensätzliche Ergebnisse zu verzeichnen. So stellten Manoach und Kollegen eine Zunahme der Aktivität vor allem im linken DLPFC von an Schizophrenie Erkrankten im Vergleich zu Gesunden fest (Manoach et al., 1999). Diese Ergebnisse bestätigen somit die schon in 1995 von Frith und Kollegen benannte Aktivierungsverstärkung im DLPFC bei schizophrenen Patienten (Frith et al., 1995). Die Zunahme der Aktivierung im Falle einer Erkrankung an Schizophrenie wird meist als ein Kompensationsmechanismus interpretiert, welcher die Störungen im Arbeitsgedächtnis durch vermehrte Aktivität ausgleichen soll. Bei einer Minderaktivierung kommt vor allem die Hypothese des Funktionsverlusts unter dieser Erkrankung und ein schlechteres Ergebnis bei der Ausführung der Gedächtnisaufgabe bei Erkrankten zum Tragen (Callicott et al., 2003).

Diese Beispiele belegen also, dass es keine eindeutigen Ergebnisse gibt. Vielmehr beinhalten die Untersuchungen gerade im Zusammenhang mit dem DLPFC viele verschiedene Erkenntnisse und Resultate. Nicht zuletzt werden die Hypothesen, die im Rahmen der Schizophrenie untersucht werden, von Studien mit gesunden Probanden weiter relativiert. So machten Callicott und Kollegen in ihrer Studie deutlich, dass auch bei Gesunden Effekte im Arbeitsgedächtnis, insbesondere aber im DLPFC, zu finden sind (Callicott et al., 1999). Bei zunehmender Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses durch die Erhöhung des Schwierigkeitsgrades einer Arbeitsgedächtnisaufgabe konnte ein umgekehrter U-förmiger Verlauf der Intensität der hämodynamischen Antworten im Bereich des DLPFC beobachtet werden (siehe Abb. 17). Zudem konnte man in der Studie auch feststellen, dass die Genauigkeit, mit welcher die Aufgabe ausgeführt wurde, mit zunehmendem Schweregrad abnimmt. Dies zeigt, dass auch bei Gesunden die Aktivität im DLPFC stark vom Schwierigkeitsgrad und der Ausübung der Aufgabe abhängt. Bei Schizophrenen besteht nun die Vermutung, dass sich dieser physiologische U-förmige Verlauf der Kurve nach links verschiebt und die Arbeitsgedächtniskapazität früher erschöpft ist als bei Gesunden. Dies führt somit früher zu einer Hypofrontalität.

Pathologische Auffälligkeiten können auch im Rahmen der Bipolaren Störung gerade im Bereich des DLPFC aufgezeigt werden (Rajkowska et al., 2001). Auch von Aufmerksamkeits- und Problemlösungsstörungen, die stark an die Funktion des Arbeitsgedächtnisses geknüpft sind, wird berichtet (Zihl et al., 1998). Darüber hinaus sind nicht nur symptomatische Defizite bekannt, sondern auch neuronale Veränderungen und solche, die das Gliazellsystem betreffen (Rajkowska et al., 2001).

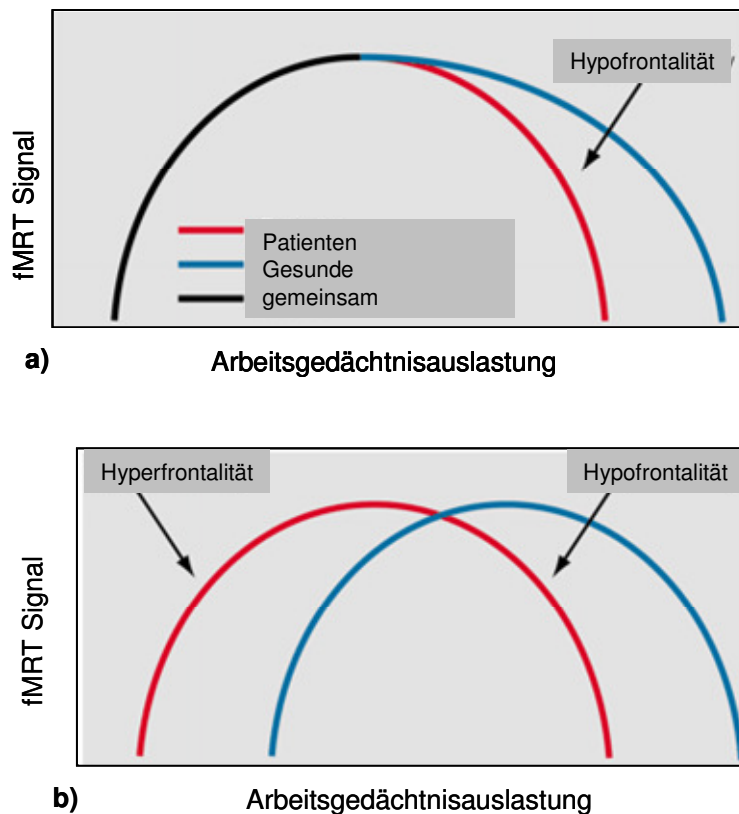


Abbildung 17: Umgekehrter U-förmiger Verlauf der fMRT-Signalkurve bei zunehmender Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses. a) Zunächst gleicher Verlauf der Kurven bei Erkrankten und Gesunden, solange bis sich die Arbeitsgedächtniskapazität der Patienten früher erschöpft (sogenannte Hypofrontalität). b) Erkrankte erreichen das Maximum der Kurve am Anfang der Arbeitsgedächtnisbeanspruchung schneller als Gesunde. Dies ist ein möglicher Erklärungsansatz, um das gleichzeitige Auftreten von Hyperfrontalität bei Patienten zu verstehen (nach Callicott et al. 2003).

Es liegen also Arbeitsgedächtnisstörungen im Zusammenhang mit Schizophrenie vor. Im Folgenden richtet sich nun der Fokus auf den Einfluss und die Auswirkung von Risikogenen auf die Funktion des Arbeitsgedächtnisses. Da das in dieser Arbeit behandelte Gen *CACNA1C* sowohl als Risikogen für Bipolare Störung als auch für Schizophrenie gilt, stellt sich daher die Frage, ob dieses Risikogen einen Einfluss auf die Prozesse im Arbeitsgedächtnis ausübt.

2.6 Informationen zum Gen *CACNA1C*

Im Folgenden wird ein kurzer Überblick über das Gen *CACNA1C* und seine Funktionen gegeben. Eine detaillierte Beschreibung zum Kanalaufbau findet sich im Anhang 8.2.

CACNA1C ist ein Gen, das die alpha1-Untereinheit eines spannungsabhängigen Calciumkanals vom L-Typ codiert. Es wird auch als *CaV1.2* bezeichnet. Lokalisiert ist es auf dem kurzen Arm des Chromosoms 12 auf der Position 13.3 (U.S.NLM, 2011). Abbildung 18 stellt dieses Gen mit seinen Abschnitten schematisch dar.

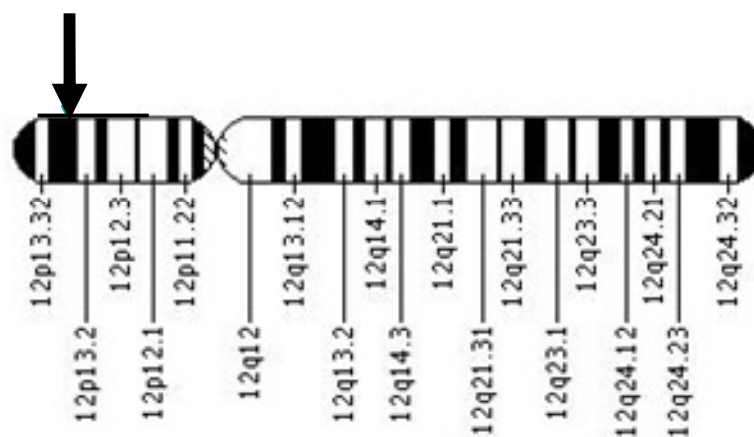


Abbildung 18: Schematische Darstellung des Chromosoms 12. Der Pfeil deutet auf den Genabschnitt im kurzen Arm des Chromosoms, in dem das Gen *CACNA1C* die alpha1c-Untereinheit des L-Typ Calciumkanals kodiert (U.S.NLM, 2011).

Der Calciumkanal gehört zu den sogenannten high-voltage activated Calciumkanälen, zu denen auch die sogenannten N-, B- und P-Typ Kanäle zählen (Schleifer, 1997). Die L-Typ Kanäle wurden zuerst in Verbindung mit peripheren Neuronen und Herzzellen beschrieben (U.S.NLM, 2011). Mittlerweile weiß man jedoch, dass sie auf allen erregbaren Zellen zu finden sind (Tsien et al., 1991). Verantwortlich sind sie neben der elektromechanischen Kopplung in Muskelzellen auch für den Calciumeinstrom in die Zelle (Schleifer, 1997). Das bedeutet, dass sie maßgeblich sowohl an der Kontraktionsfähigkeit bestimmter Organe als auch der Gefäße beteiligt sind. Ein weiterer Aspekt ist die Bedeutung des Calciumkanals im Zusammenhang mit der Freisetzung von Neurotransmittern, zumal Calcium an einigen Stellen selbst als Neurotransmitter fungiert (Schleifer, 1997). Wie der Name „spannungsgesteuert“ schon

impliziert, verändert der Kanal je nach Spannungszustand seine Konfiguration. So sind die Calciumkanäle bei einem Membranruhepotential von -90 bis -60 mV in einem geschlossenen Zustand und werden erst zum Calciumeinstrom geöffnet, wenn die Zelle von einem Aktionspotenzial erreicht wird. Wenn das Membranpotential auf ca. -30 mV gestiegen ist, kommt es beim L-Typ Calciumkanal zu einer Konformationsänderung. Diese bewirkt dann ein Öffnen des Kanals und der Calciumeinstrom kann erfolgen. Nach der Aktivierung des Kanals dauert es beim L-Typ Kanal recht lange (500 ms im Gegensatz zum T-Typ mit nur wenigen Millisekunden), bis er sich wieder schließt und in den inaktivierten Zustand übergeht.

Die Besonderheit dieses Kanals liegt zudem in seiner hohen Affinität zu dem chemischen Stoff Dihydropyridin. Mittlerweile gibt es einige Derivate dieses Stoffes. Diese werden unter der pharmakologischen Klasse der Calciumantagonisten vom Nifedipin-Typ zusammengefasst und gelten als bewährte Pharmakotherapeutika in der Behandlung der arteriellen Hypertonie (Karow und Lang-Roth, 2008).

3 Fragestellung und Hintergründe meiner Analyse

Mithilfe der genetischen Bildgebung soll in dieser Studie untersucht werden, wie *CACNA1C* auf Hirnsystemebene wirkt. Bevor in den folgenden Kapiteln das Vorgehen bei den methodischen Überlegungen und Auswertungen erläutert wird, soll zunächst die Bedeutung des Gens *CACNA1C* im Zusammenhang mit psychiatrischen Störungen, insbesondere der Schizophrenie und der Bipolaren Störung, verdeutlicht werden. Anschließend wird auf eine relevante Studie eingegangen, in der bereits versucht wurde, die Bedeutung des Gens *CACNA1C* mithilfe der genetischen Bildgebung zu verstehen. Abschließend soll die Hypothese der hier vorliegenden Studie spezifiziert werden.

3.1 *CACNA1C* im Kontext der psychiatrischen Hirnforschung

Störungen im Funktionsablauf der spannungsgesteuerten Calciumkanäle, die *CACNA1C* kodiert, bedingen verschiedene mehr oder minder stark ausgeprägte Erkrankungen. Zum Beispiel können Gen-Mutationen im Zusammenhang mit dem *CACNA1C* Gen solche Störungen hervorrufen. Eindrücklich beschrieben ist das Timothy Syndrom, auch „long-QT-Syndrom“ genannt (Splawski et al., 2004). Durch Mutationen im *CACNA1C* Gen treten schwerste auch phänotypisch sichtbare Störungen auf. Neben starken Arrhythmien treten häufig angeborene Herzfehler und auch dysmorphe Veränderungen der Gesichtsform und der Finger (Syndaktylie) auf (Splawski et al., 2004). Außerdem berichten Splawski und Kollegen auch von Entwicklungsstörungen schon in frühester Kindheit. Man konnte beobachten, dass sich bei diesen Kindern die Entwicklung der Sprache und der Motorik verzögert. Alle Bereiche, in denen adaptive Funktionen erfordert sind, wie beispielsweise Kommunikation und soziale Fertigkeiten, sind zusätzlich gestört.

Weiterhin konnte in der Untersuchung gezeigt werden, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen der als Timothy Syndrom bezeichneten Erkrankung und Autismus besteht. Hier zeigt sich also eine Verbindung zu psychiatrischen Erkrankungen und die Vermutung, dass das Gen *CACNA1C* eine weitaus größere Rolle bei der Entstehung von psychischen Erkrankungen einnimmt, liegt nahe.

Genomweite Assoziationsstudien - Identifizierung von CACNA1C

Eine zurzeit sehr populäre Methode, die Aufschlüsse über das Vorhandensein von Risikogenen zu einer bestimmten Erkrankung geben soll, ist die Genomweite Assoziationsstudie (GWAS). Seit einigen Jahren ist es mithilfe der Durchführung dieser Studien möglich, Polymorphismen für viele verschiedene Gene innerhalb einer großen Anzahl von Probanden zu detektieren. Polymorphismus bedeutet, dass Variationen in der Abfolge von Nukleotiden innerhalb eines bestimmten Gens und dessen DNA-Sequenz zwischen einzelnen Individuen auftreten. Dabei werden die Zellen des Probanden genetischen Analysen unterzogen, die Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP) erkennen sollen. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde der SNP rs1006737 im Gen *CACNA1C* als möglicher Risiko-SNP für verschiedene psychiatrische Erkrankungen identifiziert.

CACNA1C und seine Assoziation mit Bipolarer Störung

Neben dem Einfluss des Gens auf die Entwicklung eines Autismus, hat man zunächst einen deutlichen Zusammenhang von *CACNA1C* mit der Entstehung einer Bipolaren Störung feststellen können. Ferreira und Kollegen konnten in einer GWAS zeigen, dass zum einen das Gen *ANKK1* und zum anderen das Gen *CACNA1C* stark mit dem Krankheitsbild der Bipolaren Störung assoziiert sind (Ferreira et al., 2008). Im Falle von *CACNA1C* zeigt die Region rs1006737 die stärkste Assoziation mit der Erkrankung. *ANKK1* kodiert ein Protein, welches an dem Einbau von spannungsgesteuerten Calciumkanälen beteiligt ist (Kordeli et al., 1995). Das heißt, dass beide Gene für Calciumkanalfunktionen verantwortlich sind. Dies wiederum lässt die Vermutung aufkommen, dass auch die Bipolare Störung eng mit Kanaldysfunktionen verknüpft ist. Ähnliche Ergebnisse, welche die Assoziation des Gens *CACNA1C* mit Bipolarer Störung betreffen, finden sich auch bei Sklar und Kollegen (Sklar et al., 2008). Diese konnten in einer groß angelegten und replizierten Studie neben drei weiteren SNPs insbesondere für *CACNA1C* einen deutlichen Zusammenhang mit dieser Störung erkennen.

CACNA1C und seine Assoziation mit Schizophrenie

Kurze Zeit später konnte von Green und Kollegen gezeigt werden, dass das Gen *CACNA1C* nicht nur als Risikogen für Bipolare Störung, sondern auch für Schizophrenie zu beurteilen ist. Dabei wurden zwei weitere Stichprobengruppen, zum

Einen mit Fällen von unipolarer Depression und zum Anderen mit Fällen von Schizophrenie, mit einer Kontrollgruppe verglichen. Der Polymorphismus rs1006737 im Gen *CACNA1C*, der vorher bereits im Zusammenhang mit Bipolarer Störung gefunden wurde (Ferreira et al., 2008; Sklar et al., 2008), zeigte sich dabei in den Gruppen mit Depression und Schizophrenie im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant vermehrt (Green et al., 2010). Auch Nyegaard und Kollegen wurden von den signifikanten Ergebnissen zwischen *CACNA1C* und Bipolarer Störung motiviert, in ihrer Studie einen direkten Zusammenhang zwischen *CACNA1C* und Schizophrenie zu überprüfen. Dabei konnten sie eine starke Signifikanz für *CACNA1C* als Risikogen für Schizophrenie aufzeigen, welche mit den Ergebnissen der Assoziation mit Bipolarer Störung von Ferreira und Kollegen durchaus zu vergleichen ist (Nyegaard et al., 2010).

Das Risikoallel im Gen *CACNA1C* zeigt also einen klaren Zusammenhang sowohl mit Bipolarer Störung als auch mit Schizophrenie. Diese Tatsache kann zum Einen weiteren Aufschluss auf biologische Überlappungen zwischen beiden Erkrankungen geben (Moskvina et al., 2009), zum Anderen kann sie auch eine Chance darstellen, mögliche Ursachen und Entstehungsmuster für beide Erkrankungen zu identifizieren.

3.2 fMRT-Studie von Bigos und Kollegen

Obwohl man eindeutig einen Zusammenhang zwischen dem Gen *CACNA1C* und den Erkrankungen Schizophrenie und Bipolare Störung herausfinden konnte, ist der genaue Mechanismus, welcher diese Assoziation hervorruft, noch nicht ganz verstanden. Man vermutet eine Beteiligung insbesondere der Hippocampus Formation auf neuronaler Ebene, wie sie auch unter Schizophrenie und Bipolarer Störung auftritt (Hall et al., 2010; Whalley et al., 2009). Diese These wurde in einer Studie untersucht (Bigos et al., 2010), auf welche in diesem Abschnitt ausführlicher eingegangen werden soll. In ihrer Arbeit untersuchten Bigos und Kollegen drei verschiedene Komponenten:

Zunächst führten sie eine fMRT Studie durch, um Gehirnaktivierungen zu messen, die durch Bipolare Störung und Schizophrenie erzeugt und verändert werden. Dabei wurden gesunde Nichtrisikogenträger mit gesunden Risikogenträgern verglichen. Bei dem Risikogen handelt es sich hier, wie auch in dieser Arbeit, um *CACNA1C* mit dem Abschnitt rs1006737. In einem zweiten Schritt wurde der genetische Einfluss von *CACNA1C* auf die messenger-RNA (mRNA) postmortem an menschlichen Gehirnen

untersucht. Im letzten Schritt wurde in einer Fall-Kontroll-Studie die Assoziation von *CACNA1C* mit der Krankheit Schizophrenie bestimmt. Vor allem der erste Schritt, die fMRT Analyse, ist für die hier vorliegende Arbeit bedeutsam.

Die Hypothese von Bigos und Kollegen wurde anhand vorheriger Studien formuliert, welche einen Einfluss auf die Hirnaktivierung bei Bipolaren Störungen und Schizophrenie fanden (Almeida et al., 2010; Whalley et al., 2009). Ihre Arbeit basiert auf der Vermutung, dass auch noch nicht erkrankte Risikogenträger eine veränderte Gehirnaktivierung aufweisen, welche Ausdruck einer neuronalen Beteiligung bei erhöhtem Erkrankungsrisiko darstellt. Bigos und Kollegen stellen die Überlegung an, dass bei Probanden mit dem Risikogen *CACNA1C* die Aktivität in Amygdala und Hippocampus während emotionaler Stimuli steigt, ganz im Gegensatz zu Nichttrisikoaallelträgern. Hierfür wurden die Studienteilnehmer mithilfe von drei verschiedenen Aufgaben getestet. Zunächst wird eine Enkodierungs- und Wiederabruf-Gedächtnisaufgabe („encoding“ und „retrieval“) ausgeführt. Im Anschluss werden emotionale Stimuli (Gesichter) präsentiert. Auch bei der dritten Aufgabe, einer n-back Arbeitsgedächtnisaufgabe (weitere Erklärungen zu dieser Aufgabenart erfolgen im Kapitel 4.3), soll sich dieses Phänomen im Präfrontalkortex widerspiegeln. Für die Arbeitsgedächtnisaufgabe wurde dabei ein Blockdesign mit einer 2-back Bedingung und einer 0-back Kontrollbedingung gewählt (vergleiche mit Callicott et al., 2003).

Insgesamt führten 316 Probanden diese Aufgabe aus, wobei 53% weiblichen Geschlechts waren. Nach der Vorverarbeitung der Daten folgte eine GLM Analyse zunächst auf dem First Level. Auf Probandenebene wurden statistische parametrische Karten mit den Bedingungen für 2-back und der Baseline Bedingung für 0-back erstellt, um lineare Effekte feststellen zu können. Daraufhin wurden die erstellten Kontrastbilder auf dem Second Level untersucht. Hierbei sollte festgestellt werden, ob es signifikante Unterschiede in der Hirnaktivierung der Gruppen mit unterschiedlichem Genotyp gibt. Durch vorherige Untersuchungen konnte man die Gruppe der Teilnehmer in drei genetische Risikotypen einteilen. Dabei besaßen 146 Probanden kein Risikoallel (GG), 141 Probanden waren für *CACNA1C* heterozygot (GA). Die kleinste Gruppe bildeten 29 Probanden, die homozygot (AA) für das Allel rs1006737 des Gens *CACNA1C* waren. Die Region von Interesse (ROI), die sich aus den vorherigen Studien ergab, wurde anhand der Brodmann Areale 9,10 und 46 (DLPFC) mithilfe des Pickatlas definiert. Um einen Vergleich herstellen zu können, wurde im Anschluss ein 2-sample t-Test gestartet, für den die Gruppe der heterozygoten Allelträger (GA) mit der Gruppe der Nichttrisikoaallelträger (GG) zusammengefasst wurde.

Das Ergebnis der klassischen GLM Analyse zeigt dabei wie erwartet eine deutliche Aktivitätsänderung, in diesem Fall eine Zunahme im Bereich des Präfrontalkortex innerhalb der Hochrisikogruppe (AA). Auch bei den Aufgaben „encoding“ und „emotionale Stimuli“ lassen sich Effekte sowohl im bilateralen Hippocampus als auch in der rechten Amygdala erkennen (Aktivierungszunahme). Es zeigt sich in der Studie von Bigos und Kollegen also ein deutlicher Einfluss der homozygoten Ausprägung des Risikoallels rs1006737 auf die Hirnaktivierung.

Weitere in diesem Zusammenhang wichtige Studien, die den Einfluss des Polymorphismus rs1006737 untersuchten, stammen von Erk und Kollegen (2010), Krug und Kollegen (2010) und Thimm und Kollegen (2011). Im Rahmen der Diskussion in Kapitel 6 werden diese anhand ihrer Bedeutung für die hier vorliegende Arbeit näher erläutert.

3.3 Hypothese der fMRT-Studie

Zusammenfassend ergibt sich aus diesen Studien für die hier vorliegende Arbeit eine Hypothese, welche den Ausgangspunkt und die Motivation zur Durchführung der hier präsentierten Analysen darstellt:

Ich gehe davon aus, dass auch in meiner Analyse der Hirnaktivität, die mit eigenen Probanden und der jeweiligen Aufteilung nach AA, GA, GG durchgeführt wird, ein Effekt zu finden ist, der den rechten DLPFC betrifft. Denn mein Vorgehen unterscheidet sich im ersten Schritt nicht von Bigos und Kollegen. Es kann also vermutet werden, dass eine Replikation dieser Studie mit Daten aus unserer Arbeitsgruppe den gleichen Effekt aufdecken sollte, wie Bigos und Kollegen ihn erhalten haben.

Die gesteigerte Reliabilität, die sich mithilfe einer Replikation erzielen lässt, ist eine zusätzliche Motivation, die Studie von Bigos und Kollegen mit eigenen Daten zu überprüfen. Denn Studienergebnisse hängen stark von verwendeten Methoden und Messparametern ab (Bennett und Miller, 2010). Dementsprechend ist es gerade in der Forschung unabdingbar, Studien so exakt wie möglich zu replizieren, um letztendlich sichere und valide Ergebnisse zu erhalten.

4 Methodik

Im Folgenden wird nun der Aufbau und der Ablauf der Studie beschrieben. Zunächst folgt hierzu ein kurzer Überblick über die beteiligte Studienpopulation, über die genetische Analyse der Probanden und über die verwendete Arbeitsgedächtnisaufgabe. Danach schließt sich die Methodik der Datengewinnung an. Das Kapitel schließt mit Erläuterungen zur Datenanalyse.

4.1 Studienpopulation

Durch Aushänge an der Universität Aachen und durch Annoncen in lokalen Zeitungen sowie durch eine e-Mail-Anfrage an alle Studierende der Universität Aachen wurden insgesamt 95 Probanden gefunden, die sich bereiterklärten, an der Studie teilzunehmen. Die Probanden wurden nach folgenden Gesichtspunkten in die Studie eingeschlossen:

- Alter zwischen 18 und 55 Jahren
- Rechtshändigkeit, getestet mit dem „Edinburgh Fragebogen“ (Oldfield, 1971)
- Keine psychiatrischen Erkrankungen in der Vorgeschichte und aktuell nach ICD-10
- West- oder Mitteleuropäische Abstammung

Ein Proband musste aufgrund von Problemen während des Datentransfers für die Datenauswertung ausgeschlossen werden. Somit wurden 94 Probanden in die Studie miteinbezogen.

Jeder Proband wurde zunächst komplett über den Ablauf aufgeklärt und informiert. Anschließend gaben die Probanden schriftlich ihre Einverständniserklärung ab, an der Studie teilnehmen zu wollen. Das Protokoll wurde von der lokalen Ethikkommission nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki überprüft. Die Probanden sind Teil einer größeren Studienpopulation, welche schon in vorherigen Studien unter Verwendung anderer Genotypen und anderer Aufgaben analysiert wurde. Innerhalb dieser großen Studienpopulation nahmen sie bereits vor Ausführung der fMRT-Untersuchung an einigen neuropsychologischen Tests teil, um interindividuelle Unterschiede in der Durchführung der Arbeitsgedächtnisaufgabe feststellen zu können.

Dabei wurden exekutive Funktionen mit dem „trail making test“ (TMT-B, Reitan und Wolfson, 1985), Sprachfunktionen mit der „semantic and lexical word generation“ (Lezak, 1995) und Aufmerksamkeit mit dem „d2-test“ (Brickenkamp, 2002) überprüft. Das Arbeitsgedächtnis wurde mit einem räumlichen Test aus dem „Wechsler Memory Scale“ (Wechsler, 1997) und einem „letter-number-span“ Test (Gold et al., 1997) beurteilt.

4.2 Durchführung der genetischen Analyse

Die genetische DNA wurde mit „ethylenediaminetetraacetic acid“ (EDTA) antikoaguliertem venösem Blut nach Standardprozeduren extrahiert. Der SNP rs1006737 wurde genotypisiert anhand eines Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System unter Zuhilfenahme eines TaqMan 5' Nuklease Assay (TaqMan® SNP Genotyping Assay ID C_2584015_10; Applied Biosystems). 15% der Probe wurden dabei zweifach bestimmt, um eine möglichst hohe Genauigkeit in der Genotypisierung zu erreichen. Die Reproduzierbarkeit betrug dabei 100%. Anschließend wurden die Probanden abhängig vom SNP rs1006737 in drei genetische Risikogruppen eingeteilt. Probanden, die homozygote Träger eines „G“ Allels waren, wurden dabei als „Niedrigrisiko“-Gruppe klassifiziert. Probanden, die homozygot für ein „A“ Allel waren, wurden in die „Hochrisiko“-Gruppe eingeteilt. Die letzte Gruppe wurde aus Probanden gebildet, die heterozygot für rs1006737 veranlagt waren und sowohl ein „G“ als auch ein „A“ besaßen. Diese gehörten zu der „mittleren“ Risikogruppe. Tabelle 19 stellt die drei Gruppen im Überblick dar.

4.3 Arbeitsgedächtnisaufgabe

Als Arbeitsgedächtnisaufgabe wurde eine Variante der von Glahn und Kollegen (2005) und Owen und Kollegen (2005) beschriebenen n-back Aufgabe durchgeführt. Einzelne rote Buchstaben wurden auf einem schwarzen Hintergrund für 500ms in einer pseudo-randomisierten Anordnung gezeigt. Nachdem einige einzelne Buchstaben präsentiert wurden, folgte die Einblendung eines weißen Bildschirms für 400ms. Die n-back Aufgabe bestand aus drei verschiedenen Bedingungen: aus einer Buchstabenfixierung als Basisbedingung, einer 0-back Bedingung und einer 2-back Bedingung.

<i>CACNA1C</i> Status	niedriges Risiko (G/G)	mittleres Risiko (G/A)	hohes Risiko (A/A)
Anzahl der Probanden	43	39	12
Geschlecht (Männer/Frauen)	35/8	25/14	6/6
Alter (Jahre)	23.5 ± 3.3	23.1 ± 2.8	23 ± 1.0
Ausbildung (Jahre)	15.9 ± 2.8	15.4 ± 2.5	15.8 ± 1.6

Abbildung 19: Probandencharakteristik nach Geschlecht, Alter und Ausbildungsjahren. Dabei wurden die Probanden entsprechend ihrem *CACNA1C* Gen-Status in drei Gruppen aufgeteilt.

Während der 0-back Bedingung sollten die Probanden jedes Mal den Antwortknopf drücken, sobald der Buchstabe „X“ erschien. Während der 2-back Bedingung sollten die Probanden den Antwortknopf drücken, wenn der Buchstabe, der aktuell erschien, mit dem Buchstaben, der zwei zuvor erschien, übereinstimmte. Die Antworten wurden mit dem Zeigefinger der rechten Hand mittels eines Antwortknopfes auf einer MR-kompatiblen Antworttastatur der Firma LUMItouch™ (Lightwave Technologies, Richmond, B.C., Canada) ausgeführt.

Insgesamt existierten vier 0-back Blöcke, welche die selektive Aufmerksamkeit beanspruchten. Diesen folgten jeweils im Wechsel vier 2-back Blöcke, die vor allem das Arbeitsgedächtnis aktivieren sollten. Zwischen beiden Bedingungen wurde jeweils ein Block für die Basisbedingung eingeschoben. Jeder einzelne Block dauerte 27 Sekunden. Insgesamt dauerte die gesamte fMRT-Aufgabe 8 Minuten und 8 Sekunden. Sowohl während jedes 0-back Blocks als auch während jedes 2-back Blocks wurden sieben Ziele vorgegeben, die durch einen Knopfdruck beantwortet werden mussten (Zielrate: 0.37). Zu Beginn jeder Bedingung wurde den Probanden eine Instruktion präsentiert, welche sie kurz auf die folgende Aufgabe vorbereitete.

Auf Verhaltensebene wurden keine Unterschiede in der Ausübung der fMRT Aufgabe (beispielsweise in der Anzahl der korrekten oder falschen Antworten oder der Reaktionszeiten) zwischen den Genotypgruppen erwartet, weil die Probanden diese Aufgabe typischerweise bereits schon auf einem hohen Aufmerksamkeitsniveau ausführten und sich dieses ab einem bestimmten Niveau nicht mehr steigern lässt

(„ceiling effect“). Das heißt also, dass die Durchführung der Aufgabe nicht als Testung benutzt wurde, um Unterschiede beispielsweise in der Arbeitsgedächtnisleistung zwischen den Probanden festzustellen, sondern vielmehr um die Aufmerksamkeit der Probanden zu überprüfen.

4.4 MRT-Datenaufnahme

Die MR-Daten der Probanden wurden auf einem 3 Tesla TIM-Trio MR Tomograph (Siemens Medical Systems) am Forschungszentrum Jülich erhoben. Als Mess-Sequenz wurde eine T2*-gewichtete echoplanare Sequenz mit folgenden Parametern ausgewählt: Matrix 64x64 Pixel, FOV (field of view) 200 mm, 36 Schichten mit Schichtdicke = 3 mm, in-plane resolution 3.13 mm, Repetitionszeit (TR)= 2.25 s, Echozeit (TE) = 30 ms, Auslenkwinkel (flip angle) = 90°.

Die Schichten bedeckten das gesamte Gehirn und wurden parallel der AC-PC-Linie (anterior-posteriore Kommissur) transaxial aufgenommen. In jedem Durchgang wurden insgesamt 217 funktionelle Bilder gemessen. Die ersten drei Bilder wurden von den folgenden Analysen ausgeschlossen, um den Einfluss von T1-Sättigungseffekten auszuschließen.

4.5 MRT-Datenanalyse: Vorverarbeitung der MR-Daten

Die MR-Daten wurden mit dem Softwarepaket SPM5 bearbeitet (vgl. Kap. 2.4). Die Daten wurden zeitlich („slice timing“) und räumlich („realignment“) korrigiert. Dann erfolgte eine Transformation der Daten auf das in SPM5 verwendete Standardgehirn (MNI-Gehirn) (Normalisierung, Voxelgröße 2x2x2 mm³) und eine Glättung mit einem isotropen Gaußschen Filter (Filterbreite 8 mm). Abschließend wurden die Daten mit einem Hochpassfilter („cut off period“ 128s) für langwellige Artefakte bereinigt.

4.6 Statistische Auswertung

Nach der Vorverarbeitung wurden die MR-Daten statistisch darauf analysiert, ob es Aktivierungsunterschiede zwischen den verschiedenen *CACNA1C* Genotyp-Gruppen gab.

4.6.1 Statistische Analyse der Einzelprobanden-Daten („First Level Analyse“)

Erster Schritt der statistischen Analyse war die Erstellung einer Designmatrix, die Informationen über das Experiment enthält. Diese Designmatrix sollte zusätzlich aber weitere Variablen enthalten, die einen Einfluss auf das Messsignal ausübten, welches detektiert wurde. Dies war wichtig, da bestimmte Parameter einen störenden Einfluss auf das Untersuchungsergebnis hatten und sie auf diese Art und Weise herausgerechnet werden konnten. Die Designmatrix ist graphisch in Abbildung 20 dargestellt. In dieser Analyse wurden zunächst neun Regressoren, dargestellt als Spalten, in das Design aufgenommen.

Drei Regressoren wurden durch die Aufgabe selbst gebildet. In Abbildung 20 steht die erste Spalte für die 0-back Bedingung, die zweite für die 2-back Bedingung und die dritte Säule bildet die Instruktion ab, welche am Anfang vor jedem Block gegeben wurde. Die restlichen sechs Spalten stehen für Störgrößen, in diesem Fall Bewegungsartefakte, die herausgerechnet werden sollten. Die letzte leere Säule ist eine Referenzsäule, die sich auf die mittlere Aktivierung bezieht und in jede Analyse standardmäßig eingeführt wurde. Im Rahmen des Allgemeinen Linearen Modells wurden die Parameter für jeden Regressor geschätzt. Diese Parameter („ β -maps“) geben im Allgemeinen Hinweise darauf, wie stark die einzelnen Regressoren das gemessene Signal erklären.

Für die weitere Analyse war insbesondere der Aktivierungsunterschied zwischen der 2-back- und der 0-back-Bedingung von Interesse. Als Maß für diesen Aktivierungsunterschied wurde die Differenz der β -Bilder für beide Bedingungen gebildet („Kontrastbilder“, Abb. 21). Dieses Differenzbild diente als Grundlage für die weitere Analyse der Ergebnisse auf Gruppenebene („second level“).

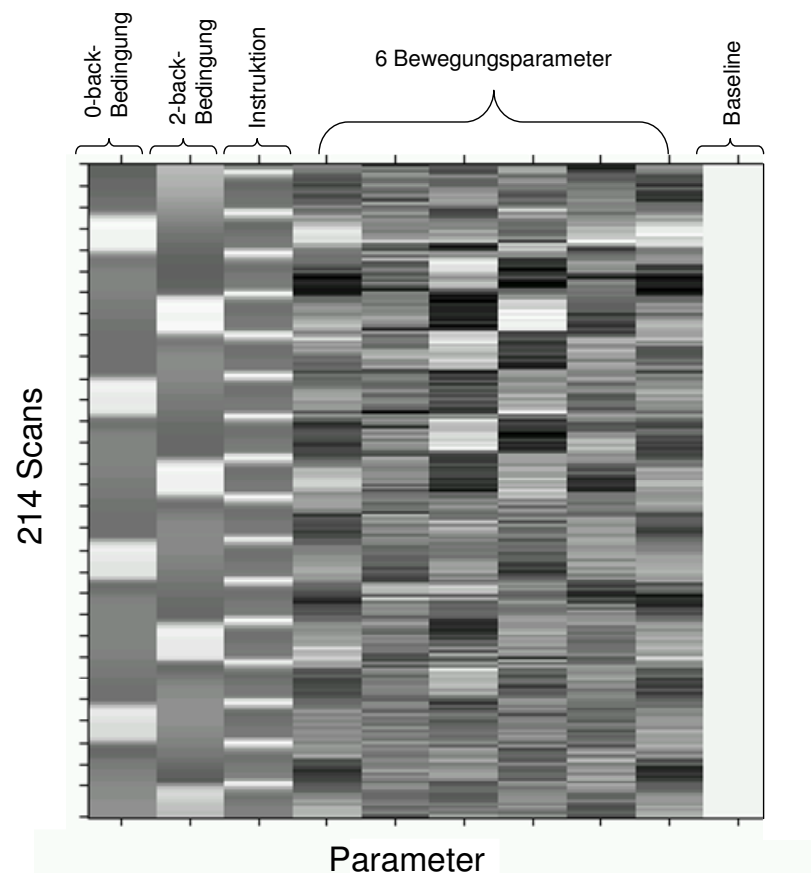


Abbildung 20: Designmatrix in der First Level Analyse. Die Spalten stellen die Regressoren dar. Die ersten drei Regressoren sind experimentelle Bedingungen, die nächsten sechs Spalten bilden die Bewegungsparameter ab und sollen zusätzliche Varianz erklären. Die Baseline stellt die Referenzsäule dar.

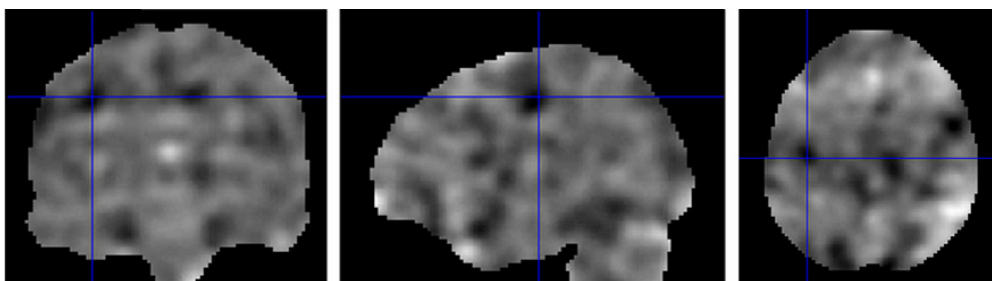


Abbildung 21: Die „Kontrastbilder“ jedes einzelnen Probanden wurden in die Second Level Analyse eingegeben. Dargestellt ist exemplarisch ein Kontrastbild für einen repräsentativen Probanden.

4.6.2 Statistische Analyse der Gruppendaten („Second Level Analyse“)

Um Aussagen über Unterschiede zwischen den einzelnen *CACNA1C* Genträgergruppen treffen zu können, wurden die zuvor schon gewonnenen Informationen über die Aktivierungsmuster jedes einzelnen Probanden, die Kontrastbilder, einer Second Level Analyse unterzogen. Dabei wurden alle Kontrastbilder, die die Aktivierungsunterschiede zwischen der 2-back und 0-back Bedingung beschreiben, in diese zweite Analyse einbezogen. Dadurch konnte ein Eindruck über die Aktivierungen und Deaktivierungen in der vorliegenden Stichprobe gewonnen werden. Als statistisches Modell wurde zunächst als allgemeinstes Modell eine Varianzanalyse (analysis of variance, ANOVA) mit drei Gengruppen gewählt. Als zusätzliche Kovariate wurde die Geschlechtszugehörigkeit mitmodelliert, da sich diese zwischen den Gruppen deutlich unterschied (Abb. 22)².

4.6.3 Statistische Inferenz

Im ersten Schritt wurde analysiert, welche Hirnareale aktiviert (2-back > 0-back) bzw. deaktiviert (0-back > 2-back) waren. Aktivierungs- und Deaktivierungsmuster wurden dabei mit einem statistischen Schwellwert von $p < 0.05$, korrigiert für multiple Testungen, dargestellt.

Im zweiten Schritt wurde mittels eines F-Kontrasts analysiert, wie sich die Gengruppen in ihrer Aktivierung unterscheiden. Die Daten wurden dabei zuerst auf Ebene des gesamten Gehirns analysiert, danach mittels einer ROI-Analyse für den rechten DLPFC. Als statistischer Schwellwert wurde wiederum $p < 0.05$, korrigiert für multiple Testungen, gewählt. ROI-Analysen können insbesondere bei Vorhandensein von klaren Vorstellungen über die Lage der Aktivierungsunterschiede gerechnet werden. Sie haben den Vorteil, dass sie aufgrund des geringeren Volumens, in dem Aktivierungen analysiert werden, besonders effektiv sind. Die ROI-Analyse wurde motiviert durch Ergebnisse von Bigos und Kollegen (2010), die während einer analogen Arbeitsgedächtnisaufgabe Aktivierungsunterschiede zwischen den Gengruppen

² Um den Einfluss der ungleichen Geschlechterverteilung zwischen den Gruppen weiter zu untersuchen, wurden posthoc ebenfalls Analysen gerechnet, in welchen zum Einen „nur Männer“ eingeschlossen wurden, zum Anderen das Geschlecht nicht als Kovariate modelliert wurde. In beiden Fällen änderten sich die Ergebnisse qualitativ jedoch nicht.

**Design Matrix –
GLM_ANOVA mit Geschlecht als Covariate (4)**

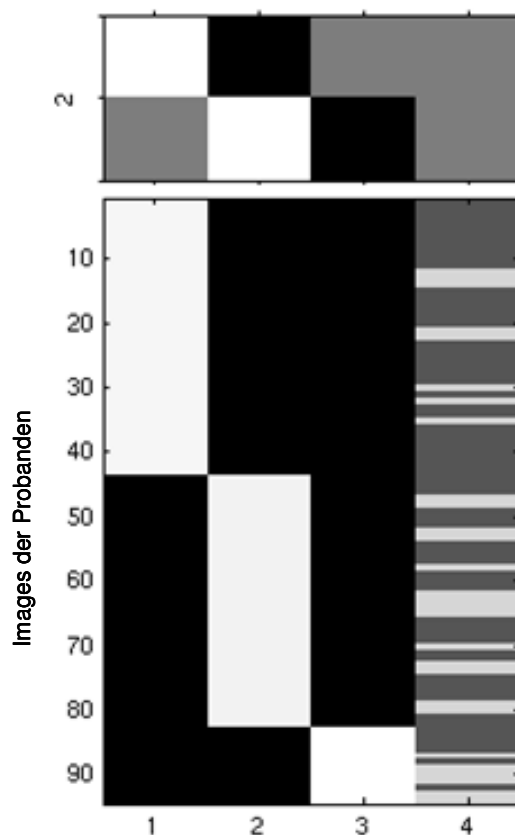


Abbildung 22: Erweiterung der Designmatrix zur Durchführung einer GLM-ANOVA, um Gruppenunterschiede in den Aktivierungen feststellen zu können. Die ersten drei Spalten stellen die Risikogruppen (AA, GA, GG) dar. Die vierte Spalte modelliert das Geschlecht als Kovariate. Mögliche Fehler, die durch die unterschiedlichen Gruppenzusammensetzungen zustande kommen können, werden so minimiert. Der interessierende F-Kontrast liegt auf den Gengruppenunterschieden.

im rechten DLPFC fanden (vgl. Kapitel 3.2). Technisch wurde die ROI über den Wake Forest University (WFU) Pickatlas erstellt (Maldjian et al., 2004; Maldjian et al., 2003). Dabei wurde eine DLPFC-Maske verwendet, die analog zu der Studie von Bigos und Kollegen (2010) aus den Brodmann Arealen 9, 10 und 46 bestand (Dilatationsfaktor 1).

Die Ergebnisse aller Analysen werden als MNI-Koordinaten präsentiert. Die entsprechende anatomische Lokalisation der gefundenen Areale wird mithilfe der „SPM Anatomy Toolbox“ (Eickhoff et al., 2006) und dem Talairach Atlas (Talairach and Tournoux, 1988) beschrieben.

5 Ergebnisse

Das folgende Kapitel ist der Darstellung der durch Datengewinnung und -analyse erhaltenen Ergebnisse gewidmet. Zuerst werden die Verhaltensdaten dargestellt, dann die fMRT-Daten. Die Darstellung der fMRT-Ergebnisse gliedert sich in vier Teile: zuerst wird die Gesamtaktivierung gemittelt über alle Probanden dargestellt (Analyse 1), anschließend folgen drei Analysen zu Gruppenunterschieden (Analysen 2-4).

5.1 Analyse der Verhaltensdaten

Von 81 Probanden existieren Daten über das Verhalten bei der Aufgabenausführung. Wie erwartet, deckte die Analyse dieser Daten (beispielsweise die Anzahl der korrekten Antworten, Reaktionszeiten) keine signifikanten Unterschiede in der Ausübung der Aufgabe zwischen den Genotyp-Gruppen auf (alle $p > 0.05$). Die Anzahl der richtigen Antworten betrug über 90% bei der 2-back Bedingung und sogar über 98% bei der 0-back Bedingung. Dies kann als ein hohes Maß an korrekter Durchführung interpretiert werden. In Abbildung 23 sind die Unterschiede und Standardabweichungen dazu tabellarisch aufgeführt.

	rs1006737 Risikostatus			p
	GG (n = 35)	GA (n = 37)	AA (n = 9)	
n-back Ausführung				
2-back getroffen	26.0 ± 1.7	24.9 ± 3.6	27.0 ± 0.9	0.056
2-back verpasst	2.0 ± 1.7	3.1 ± 3.6	1.0 ± 0.9	0.056
2-back Fehlalarm	1.0 ± 1.4	1.0 ± 1.4	0.4 ± 1.7	0.520
2-back Reaktionszeit	444.0 ± 45.8	444.0 ± 77.0	417.1 ± 60.0	0.494
0-back Ausführung				
0-back getroffen	27.9 ± 0.2	27.7 ± 0.7	28 ± 0.0	0.101
0-back verpasst	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.6	0.0 ± 0.0	0.158
0-back Fehlalarm	0.5 ± 0.7	0.5 ± 0.7	0.2 ± 0.4	0.572
0-back Reaktionszeit	381.7 ± 41.5	385.3 ± 53.8	359.6 ± 13.0	0.324

Abbildung 23: N-back Aufgabenausführung der einzelnen Risikogruppen mit Standardabweichung und Angabe der Reaktionszeiten in Millisekunden. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Risikogruppen.

5.2 Analyse der fMRT-Daten

Im Folgenden werden die Ergebnisse der vier Analysen dargestellt. Die erste Analyse stellt die mit dem Arbeitsgedächtnis assoziierte Aktivierung gemittelt über alle Probanden dar, also ohne Berücksichtigung der genetischen Informationen. Die zweite Analyse untersucht (in einem ANOVA Modell mit drei Gruppen) mit dem genetischen Risikostatus assoziierte Gruppenunterschiede in der Hirnaktivierung spezifisch im rechten DLPFC, der vorab definierten ROI. Die dritte Analyse untersucht posthoc dieselbe Fragestellung mit einem anderen statistischen Modell (t-Test, zwei Gruppen). Die vierte Analyse untersucht explorativ weitere Aktivierungsunterschiede im gesamten Gehirn, also auch außerhalb des rechten DLPFC.

Analyse 1: Zunächst startete die Analyse mit einem Überblick über die Gesamthirnaktivität. Diese wurde über alle Probanden gemittelt. Dabei wurden zunächst keine Unterschiede zwischen den Genotyp-Gruppen gemacht. Ziel dieser Analyse war es, die mit dem Arbeitsgedächtnis assoziierte Gehirnaktivität darzustellen.

Wie in Abbildung 24 zu sehen ist, sind sowohl Aktivierungen (2-back > 0-back) und Deaktivierungen (0-back > 2-back) während der 2-back und 0-back Bedingung über das gesamte Gehirn verteilt vorhanden. Aktivierungen umfassen vor allem die Bereiche des bilateralen Präfrontalkortex, den superioren medialen frontalen Kortex, den inferioren Parietalkortex, die Basalganglien und das Cerebellum. Deutliche Deaktivierungen während der 0-back Bedingung sind vor allem im ventromedialen Präfrontalkortex, im mittleren Temporallappen und im Parahippocampus zu finden.

Analyse 2: In der zweiten Analyse wurde dann der Bereich des rechten dorsolateralen Präfrontalkortex gesondert betrachtet und der Einfluss des Risikoallels rs1006737 auf die Aktivierung in diesem Bereich dargestellt. Statistisch wurde ein ANOVA-Modell mit drei Gruppen verwendet. Die Maske, die analog zu Bigos und Kollegen (2010) für diese Region verwendet wurde, schnitt einen kleinen Teil dorsal vom Aktivierungsbereich ab (ROI = rechter DLPFC, definiert als BA 9, 10, 46 (Dilatationsfaktor 1)).

Aktivierung bei 2-back > 0-back (rot-gelb) und Deaktivierung bei 0-back > 2-back (blau-grün)

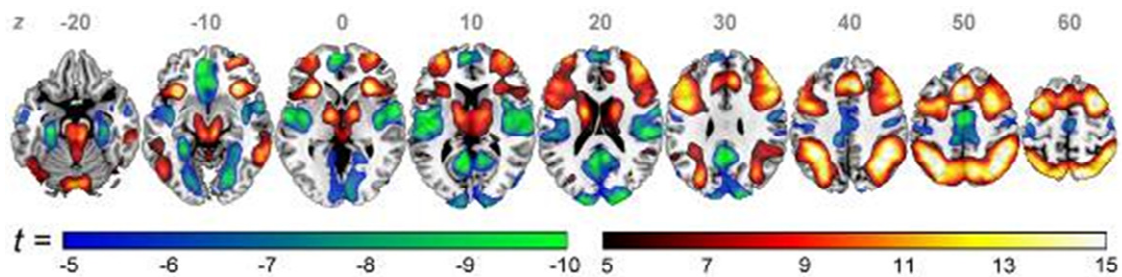


Abbildung 24: Räumliche Darstellung der Aktivierungen und Deaktivierungen bei der Analyse des gesamten Gehirns innerhalb der kompletten Stichprobe (bei $p < 0.05$, korrigiert für multiple Testungen).

Die Ergebnisse in der ROI Analyse zeigen nun signifikante Aktivierungsunterschiede im Bereich des rechten DLPFC (MNI Koordinate [54 10 40]) zwischen den Risikogruppen ($F(2,91)=4.03$, $p < 0.043$ korrigiert für multiple Testungen, Abb. 25). Eine posthoc Analyse zeigte, dass diese Aktivierungsunterschiede darauf zurückgehen, dass die Hochrisikogruppe mit den Allelen AA eine signifikante Aktivitätsminderung im Vergleich zur Niedrig (GG)- und Mittelsrisikogruppe (GA) aufweist (Abb. 26).

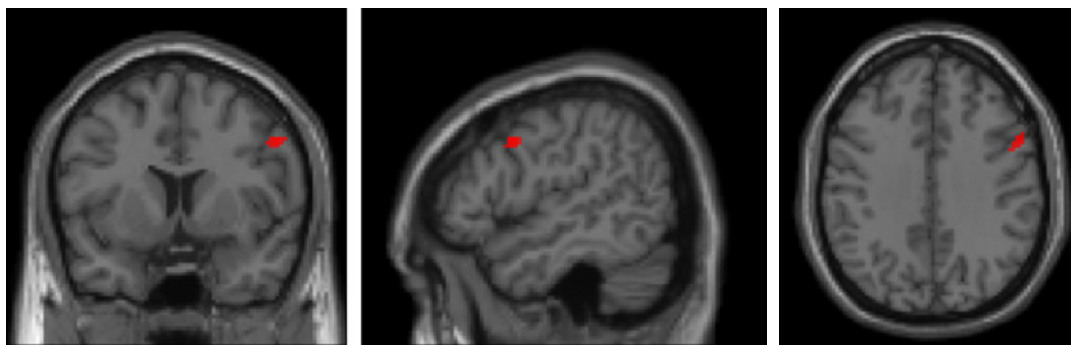


Abbildung 25: Ergebnis der ROI Analyse für den rechten DLPFC. Es zeigt sich ein deutlicher Unterschied in der Aktivierung im Bereich der MNI Koordinaten [54 10 40] bei der homozygoten rs1006737 Risikoallelträgergruppe.

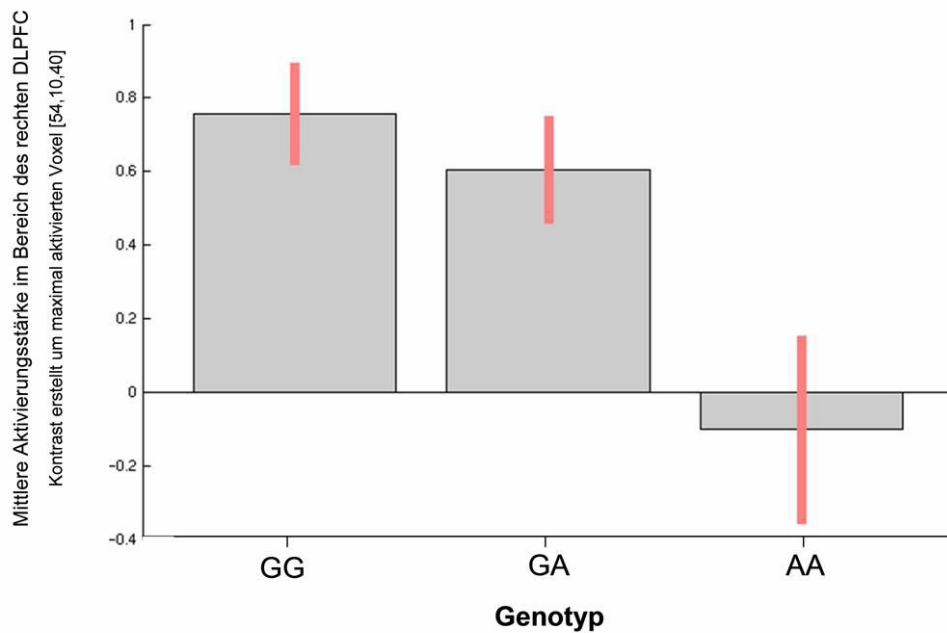


Abbildung 26: Darstellung der ANOVA-Ergebnisse, separat für jede Gruppe, im Bereich des rechten DLPFC mit den MNI Koordinaten [54 10 40]. Die Hochrisikogruppe (AA) zeigt signifikant weniger Aktivierung als die anderen beiden Gruppen.

Analyse 3: Bigos und Kollegen (2010) untersuchten Aktivierungsunterschiede zwischen den Risikogruppen erst mittels eines Regressionsmodells, dann – da keine signifikanten Unterschiede auftraten – mittels eines t-Tests, der die AA-Gruppe direkt mit der GG- und GA-Gruppe verglich. In der dritten Analyse wurde ebenfalls dieses Modell verwendet. Wiederum fanden sich Unterschiede zwischen den Risikogruppen im rechten DLPFC, die aus der Minderaktivierung der AA-Gruppe resultierten (MNI-Koordinate [54 10 40], $t(91)=4.67$, $p<0.004$, korrigiert für multiple Testungen). Dieser Befund ist nicht erstaunlich, da das Zwei-Gruppen-Modell einen Spezialfall des ANOVA-Modells darstellt, unterstreicht aber, insbesondere durch die hohen t-Werte, die Stärke des Effekts.

Analyse 4: In der vierten Analyse wurden explorativ bei einem liberaleren Schwellwert ($p=0.001$, unkorrigiert für multiple Testungen) Aktivierungsunterschiede zwischen den Risikogruppen mithilfe einer Ganzkopf-Analyse untersucht. Das Ergebnis dieser Untersuchung zeigt seinen signifikantesten Wert deutlich im rechten DLPFC. Hier unterscheidet sich also die Aktivierung zwischen den Gruppen bereits auf Ganzkopf-

Ebene. In der Glasgehirn-Darstellung in Abbildung 27 lässt sich aufgrund der Darstellung in drei Ebenen ein eindeutiges Cluster in der rechten Hemisphäre deutlich erkennen. Die übrigen Cluster erreichen nicht annähernd das Signifikanzniveau, liegen aber auch alle im Bereich der rechten Hemisphäre. Dieses Ergebnis unterstreicht deutlich die Ergebnisse der zuvor durchgeführten ROI Analyse und bestätigt, dass ein signifikanter Effekt im Bereich des rechten DLPFC vorliegt.

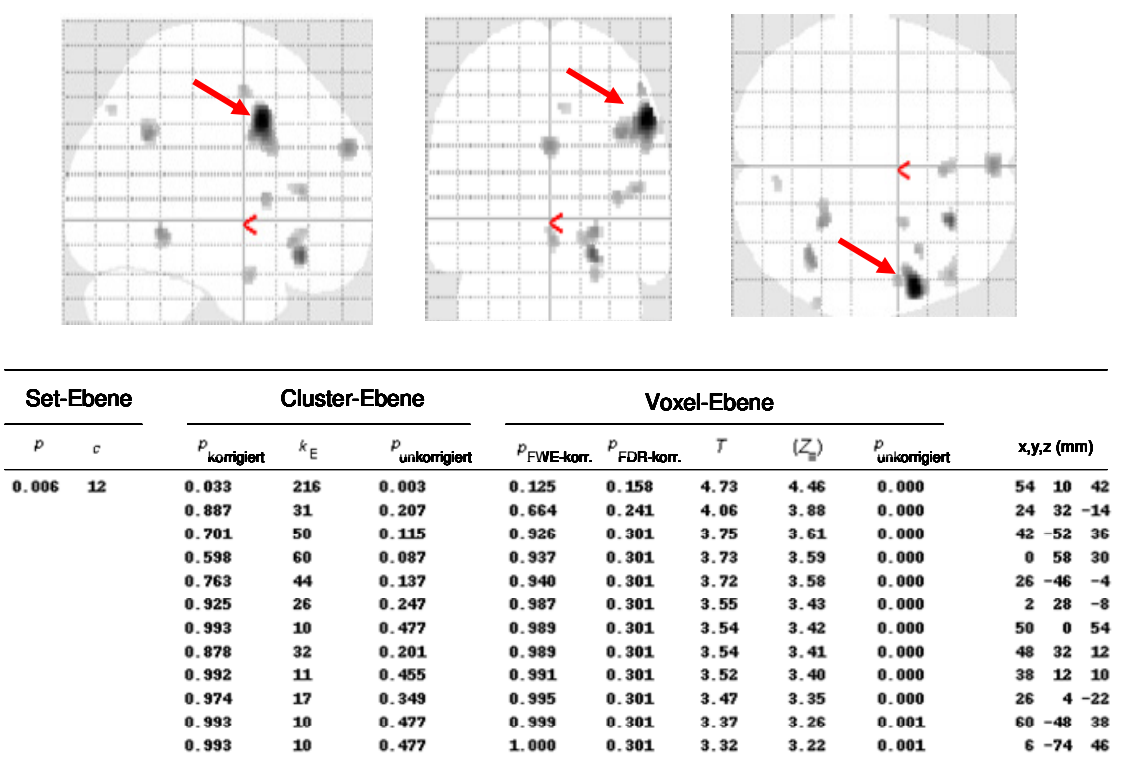


Abbildung 27: Glasgehirndarstellung der Ganzkopf-Analyse. Es findet sich hier ein deutliches Cluster im Bereich des rechten dorsolateralen Präfrontalkortex mit den MNI-Koordinaten [54 10 42].

6 Diskussion

In der vorliegenden Studie ging es darum, den Einfluss der Risikovariante rs1006737 des Gens *CACNA1C* auf neuronale Korrelate im Arbeitsgedächtnis zu erforschen. Dazu wurden gesunde Probanden untersucht, die eine Studienpopulation aus homozygoten (AA) und heterozygoten (GA) Risiko-Allelträgern und homozygoten Nichtrisiko-Allelträgern (GG) bildeten. Meine Ergebnisse zeigen, dass im Gegensatz zu bekannten Befunden homozygote Risiko-Allelträger während der Ausführung einer Arbeitsgedächtnisaufgabe signifikant weniger Aktivierung im rechten DLPFC zeigen als die beiden anderen Gruppen. Die folgende Diskussion ist in drei Teile gegliedert. Zuerst diskutiere ich die Ergebnisse meiner Analysen im Kontext der Arbeit von Bigos und Kollegen (2010), ordne die Befunde dann in die existierende Literatur ein und schließe mit einem Forschungsausblick.

6.1 Diskussion der Ergebnisse im Kontext der Arbeit von Bigos und Kollegen

Die Ergebnisse meiner Analysen stehen im Widerspruch zu bereits publizierten Daten einer anderen Arbeitsgruppe, die berichteten, dass Risikoallelträger während der Durchführung einer ähnlichen Arbeitsgedächtnisaufgabe in derselben Region des rechten DLPFC signifikant mehr Aktivierung zeigen (Bigos et al., 2010).

Meine Aktivierungsanalyse, die methodisch eng an die Studie von Bigos und Kollegen (Bigos et al., 2010) angelehnt ist, zeigt keine Übereinstimmung mit den Ergebnissen dieser Arbeitsgruppe. Wo sich bei ihnen ein Aktivierungsanstieg im rechten dorsolateralen Präfrontalkortex während der Ausübung der Arbeitsgedächtnisaufgabe insbesondere für die Gruppe der homozygoten Risikoallelträger zeigt, lässt sich in meiner Arbeit eine Verminderung im gleichen Areal mit fast identischen räumlichen Koordinaten aufzeigen. Weitere statistisch signifikante Bereiche sind in den Ergebnissen nicht zu verzeichnen. Es fällt auf, dass sich alle Aktivierungen im Bereich der rechten Hemisphäre befinden.

Die Frage ist nun, wie diese diskrepanten Ergebnisse zu erklären sind. Im Folgenden diskutiere ich drei mögliche Gründe: die Zusammensetzung der Stichprobe, die Wahl der Analysemethodik und die Wahl der Arbeitsgedächtnisaufgabe.

Zusammensetzung der Stichprobe: Beide Studien wählten für die Stichprobe junge gesunde Probanden aus. Die Stichprobenzusammensetzung beider Studien unterscheidet sich zum Teil, so sind die Probanden in dieser Studie durchschnittlich 8 Jahre jünger und es sind mehrheitlich Männer beteiligt. Dennoch ist es nicht plausibel, dass diese Unterschiede zu Ergebnisunterschieden zwischen den Studien beitragen. Die Stichprobe der homozygoten Risikogruppe (AA-Allelträger) in dieser Studie bestand im Vergleich zu den beiden anderen Gen-Gruppen aus überproportional vielen Frauen, anders als bei Bigos und Kollegen. Um einen möglichen Einfluss der Geschlechterzusammensetzung zu minimieren, wurde das Geschlecht als Kovariate in der Analyse mitmodelliert. Posthoc wurden zwei weitere Analysen gerechnet, einmal ohne diese Kovariate und einmal unter Einschluss nur der männlichen Probanden. In beiden Fällen zeigten sich im Wesentlichen die gleichen Ergebnisse, wenn sie auch in ihrer Signifikanz schwächer ausfielen. Insgesamt kann man sagen, dass die unterschiedlichen Ergebnisse meiner Arbeit und der Bigos-Arbeit nicht plausibel durch eine unterschiedliche Stichprobenzusammensetzung zu erklären sind.

Wahl der Analysemethodik: Die Analysemethodik der beiden Studien stimmt miteinander überein. Bigos und Kollegen haben zuerst drei Gruppen gebildet (GG, GA, AA) und führten dann eine Regressionsanalyse durch. Als sie keine signifikanten Ergebnisse fanden, verglichen sie dann mittels eines t-Tests die Hochrisikogruppe (AA) mit den beiden anderen Gruppen (GG und GA) und fanden die bekannten Ergebnisse. Für diese Arbeit wurde von Anfang an ein ANOVA-Modell mit drei Gruppen durchgeführt, als allgemeinste Form der Analyse. Posthoc wurde ebenfalls ein t-Test gerechnet, mit der Gruppenzusammensetzung wie bei Bigos und Kollegen. Hier bestätigten sich die zuvor erhaltenen Ergebnisse, sogar mit noch höheren t-Werten. Auch Unterschiede in der Analysemethodik können somit die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen meiner Arbeit und der Bigos-Arbeit nicht erklären.

Wahl der Arbeitsgedächtnisaufgabe: Ein tatsächlicher Unterschied jedoch bestand in der Durchführung der Arbeitsgedächtnisaufgabe. Bei Bigos und Kollegen (2010) war es erforderlich, bei jeder neuen Präsentation sowohl der 0-back-Bedingung als auch bei der 2-back Bedingung eine Antwort innerhalb eines viergeteilten Feldes abzugeben und dabei das richtige Feld zu betätigen. Die n-back-Aufgabe dieser Studie hingegen erforderte eine Antwortreaktion nur bei der Präsentation des Stimulus und war somit weniger anspruchsvoll als die Durchführung der Arbeitsgedächtnisaufgabe von Bigos

und Kollegen. Unterschiede im Schwierigkeitsgrad zwischen beiden Aufgaben könnten somit einen möglichen Erklärungsansatz für die unterschiedlichen Ergebnisse darstellen. Es ist bekannt, dass eine unterschiedlich starke Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses zu unterschiedlich starken Signalintensitäten im fMRT führt. Ein deutliches Beispiel dafür liefert beispielsweise der von Callicott und Kollegen (Callicott et al., 2003; Callicott et al., 1999) beschriebene umgekehrte U-förmige Verlauf der DLPFC Aktivierungsantwort bei zunehmender Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses (vgl. Kapitel 2.5). Während mit zunehmender Schwierigkeit der Arbeitsgedächtnisaufgabe erst die Aktivierung ansteigt, fällt sie ab einem gewissen Schwierigkeitsgrad, nämlich dann wenn die Probanden nicht mehr in der Lage sind, die Aufgabe noch adäquat zu lösen, wieder ab.

Sowohl in meiner Studie als auch in der Bigos-Studie handelt es sich jedoch um gesunde Probanden, die – wie sich aus den Verhaltensdaten absehen lässt – sehr gut in der Lage sind, die Aufgabe zu lösen. Daher würde man erwarten, dass man sich in beiden Studien auf dem noch ansteigenden Teil der U-Kurve befindet. Eine schwerere Aufgabe, wie sie Bigos und Kollegen verwenden, würde somit eine verstärkte und nicht eine verminderte Aktivierung in der AA-Gruppe erwarten lassen. Somit kann auch hier die unterschiedliche Implementation der Arbeitsgedächtnisaufgaben nicht die diskrepanten Ergebnisse erklären.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die diskrepanten Ergebnisse zwischen beiden Studien nicht plausibel durch unterschiedliche Zusammensetzungen der Stichproben oder methodischen Parameter zu erklären sind.

6.2 Die Bedeutung des Gens *CACNA1C* für die psychiatrische Hirnforschung

Im folgenden Unterkapitel sollen die in meiner Studie gewonnenen Ergebnisse in den Gesamtzusammenhang eingeordnet werden. Ich werde mich dabei insbesondere auf andere Studien aus der genetischen Bildgebung beziehen, die sich mit dem Einfluss von *CACNA1C* auf Hirnsystemebene beschäftigt haben.

Es gibt mittlerweile eine Reihe von Studien, die den Einfluss von *CACNA1C* auf Hirnsystemebene untersucht haben. Bigos und Kollegen berichten beispielsweise neben den schon ausführlich diskutierten Ergebnissen, dass das Gen während einer

Gedächtnisaufgabe, und zwar beim Enkodieren von Gedächtnisinhalten (“encoding”), einen Einfluss auf die Hirnaktivität im bilateralen Hippocampus hat (Bigos et al., 2010). Erk und Kollegen sprechen von ähnlichen Ergebnissen. Allerdings finden sie Änderungen während einer Abruf-Gedächtnisaufgabe („recall“) und zwar sowohl in Form einer herabgesetzten Aktivierung im bilateralen Hippocampus als auch in Form einer verminderten Konnektivität zwischen dem linken und dem rechten Hippocampus (Erk et al., 2010). Bei Thimm und Kollegen sollte mithilfe einer Attention Network Aufgabe der Einfluss von rs1006737 auf Orientierung, Aufmerksamkeit und auch auf exekutive Funktionen bei gesunden Probanden getestet werden. Bei einem Vergleich der Gruppen AA und GA mit der Gruppe GG konnte festgestellt werden, dass die Gruppe mit dem Risikogen (AA und GA) eine deutliche Minderaktivierung vor allem für die Orientierungs- und für die exekutive Kontrollaufgabe im rechten inferioren Parietallappen (BA 40) und im linken medialen frontalen Gyrus (BA 8) aufzeigte (Thimm et al., 2011). Auch strukturelle Veränderungen im Bereich des Hippocampus sind beschrieben (vgl. Bhat et al., 2012).

Bei allen Studien ist zu beachten, dass sie sich in ihren statistischen Modellen, insbesondere in der Art, wie Risikogruppen gebildet wurden, unterscheiden. Manche Arbeitsgruppen fassen die Träger mit einem Risikoallel (GA und AA) zusammen und vergleichen sie mit der GG-Gruppe (Krug et al., 2010), während andere Forschungsgruppen die Hochrisikogruppe (AA) mit den beiden anderen Gruppen (GG und GA) vergleichen (Bigos et al., 2010). Dieses Vorgehen erschwert die Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Hier wäre es wünschenswert gewesen, wenn in einer ersten Analyse – so wie es in dieser Arbeit auch gemacht wurde – die einzelnen Gruppen in einem ANOVA-Modell separat behandelt worden wären, bevor sie dann posthoc kombiniert wurden.

Auch der Schwerpunkt, den die einzelnen Studien auf die Rolle von *CACNA1C* sowohl als Risikogen für die Bipolare Störung, für welche es ursprünglich beschrieben wurde (Ferreira et al., 2008) und als Risikogen für Schizophrenie legen, unterscheidet sich. Erk und Kollegen interpretieren ihre Ergebnisse beispielsweise nur im Zusammenhang mit Bipolarer Störung, wohingegen Bigos und Kollegen auch zusätzlich die Schizophrenie als Risikoerkrankung in Betracht ziehen (Erk et al., 2010; Bigos et al., 2010). Ähnlich variabel verhält es sich auch mit den restlichen Studien.

Insgesamt zeichnet sich aus der Literaturlage jedoch ab, dass *CACNA1C* einen Einfluss insbesondere auf Struktur und Funktion des Hippocampus zu haben scheint. Dies ist in Analogie zu sehen, dass auch die Bipolare Störung und die Schizophrenie

eine veränderte Aktivierung im Hippocampus mit sich bringen (Erk et al., 2010; Hall et al., 2010; Heckers, 2001). Heckers beschreibt in diesem Zusammenhang vier Punkte, die die wesentlichen Veränderungen im Bereich des Hippocampus zunächst bezüglich Schizophrenie aufzeigen sollen.

Erstens wird von einer Dyskonnektivität zum unspezifischen Assoziationskortex berichtet, dem auch der dorsolaterale Präfrontalkortex zugeordnet werden kann. Dieses Phänomen beruht auf gestörten Verbindungen, die sowohl extrinsische als auch intrinsische Veränderungen aufweisen. Grundlage dieses ersten Punktes bildet eine von Roberts (1963) veröffentlichte Studie zum Thema „Schizophrenia and the brain“.

Zum Zweiten zitiert er die Studie von Friston und Kollegen, welche aufzeigt, dass die Störung hippocampaler Funktionen durch überaktivierte, aber ineffiziente synaptische Übertragungen zustande kommt (Friston et al., 1992). Diese bewirken eine Fehlregulation des frontohippocampalen Kreislaufs. Hieraus ergeben sich dann die für die Krankheiten typischen kognitiven Defizite und Symptome. Durch die hippocampale Überaktivität oder Dysfunktion ist zusätzlich die Informationsverarbeitung gestört, was auch zur Ausprägung psychotischer Symptome beiträgt. Diesen Punkt stellt er als dritte Theorie vor und verweist auf mehrere Studien, von denen hier beispielhaft die von Adler und Waldo genannt werden soll (Adler und Waldo, 1991).

Als letzte Auffälligkeit benennt er die eingeschränkte Rezeptorfunktion des NMDA Glutamaterezeptors im Hippocampus, aus der eine abnormale hippocampale Aktivität resultiert. Weiterhin wird von Honea und Kollegen eine Volumenverminderung im Hippocampus und Parahippocampus bei schizophrenen Patienten beschrieben (Honea et al., 2005). Witthaus und Kollegen können den gleichen Effekt für das Prodromalstadium der Schizophrenie bei Probanden mit ultra-hohem Risiko feststellen (Witthaus et al., 2009).

Es gab bisher nur eine Studie, die einen Einfluss von *CACNA1C* auf frontale Hirnfunktionen während Arbeitsgedächtnisprozessen feststellte, die Arbeit von Bigos und Kollegen. Da meine Daten darauf hindeuten, dass dieser Effekt nicht stabil ist und sich nicht replizieren lässt, muss er nach jetzigem Kenntnisstand kritisch betrachtet werden.

6.3 Forschungsausblick

Wie der letzte Abschnitt verdeutlicht hat, ist die Literaturlage zum Einfluss von *CACNA1C* auf Hirnsystemebene noch unübersichtlich, nicht zuletzt wegen einer fehlenden Vergleichbarkeit der Studien. Das liegt - wie bereits erwähnt - daran, dass die Methodik der Studien teils uneinheitlich ist (z.B. die Zusammensetzung der verglichenen Gruppen), zum Anderen aber auch, dass Replikationsstudien fehlen. Meine Studie war in diesem Zusammenhang die erste, die explizit den Versuch darstellte, das Ergebnis einer anderen Gruppe zu replizieren. Durch diese eine Replikation zeigt sich aber bereits, dass noch keine klaren Aussagen über den Einfluss von *CACNA1C* auf neuronale Korrelate des Arbeitsgedächtnisprozesses zu treffen sind, da die Ergebnisse bei gleicher Methodik in entgegengesetzte Richtungen abweichen.

Ergebnisse der genetischen Bildgebung werden in Zukunft verstärkt durch Metaanalysen zusammengefasst. Dabei werden die Einzelergebnisse verschiedener, häufig für sich stehender Studien eines Forschungsfeldes gemittelt, um Einzelstatistiken zu einer Gesamtstatistik zusammenzufügen. Vorteilhaft dabei ist beispielsweise, dass statistisch fehleranfällige Variablen, wie kleine Studienpopulationen, so mit weiteren Variablen übereingebracht werden können, dass sich die Effektstärke der Ergebnisse besser überprüfen lässt (Mier et al., 2010; Mothersill et al., 2012; Munafo et al., 2008; Rose und Donohoe, 2013). Damit Metaanalysen sinnvolle Ergebnisse liefern können, ist es jedoch wichtig, möglichst alle, das heißt sowohl veröffentlichte als auch unveröffentlichte Studien mit einzubeziehen, die für ein Themengebiet existieren. Dazu müssen jedoch alle Studien, auch solche mit negativen Ergebnissen und „unpassenden“, also nicht replizierenden Befunden, veröffentlicht werden. In der Forschung sollte daher die Motivation, sich solchen Studien zu widmen, stärker honoriert werden, da dieses Vorgehen letztendlich zu einer gesteigerten Reliabilität führt.

Abschließend ist also zu sagen, dass die fehlende Information über unveröffentlichte negative Ergebnisse zu der Schwierigkeit führt, genetische Effekte auf Gehirn- oder Verhaltensebene tatsächlich mit einem gewissen Maß an Stabilität und Validität benennen zu können. Mit der hier vorliegenden Studie kann also hoffentlich ein kleiner Beitrag zur Minimierung des Publikationsfehlers geleistet werden.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie stand die Frage im Mittelpunkt, ob sich neuronale Korrelate im Arbeitsgedächtnisprozess finden lassen, die einen Zusammenhang mit dem Einfluss des Einzelnukleotidpolymorphismus rs1006737 des Gens *CACNA1C* aufweisen. In der Vergangenheit wurde der Genabschnitt rs1006737 im Gen *CACNA1C* in genetischen Assoziationsstudien wiederholt mit dem erhöhten Risiko in Verbindung gebracht, an einer Bipolaren Störung oder Schizophrenie zu erkranken. Entsprechend gängiger Annahmen wird vermutet, dass diesen beiden Erkrankungen Veränderungen neuronaler Strukturen und Prozesse zugrunde liegen, die sich insbesondere auf das Arbeitsgedächtnis und den damit eng assoziierten dorsolateralen Präfrontalkortex (DLPFC) auswirken.

Anhand einer Stichprobe von 94 gesunden Probanden konnte in dieser Studie mithilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie gezeigt werden, dass homozygote Genträger eine signifikante Aktivierungsminderung im Bereich des rechten DLPFC bei Ausführung einer Arbeitsgedächtnisaufgabe im Vergleich zu heterozygoten und Nicht-Risiko-Allelträgern aufweisen. Diese Ergebnisse stehen ganz im Gegensatz zu bisher veröffentlichten Daten, die nämlich darauf hindeuten, dass der Einfluss des Risikogenabschnittes rs1006737 eine verstärkte Aktivierung im Bereich des rechten DLPFC bewirkt. So führten Bigos und Kollegen bereits 2010 eine Aktivierungsanalyse durch, um diesen Einfluss zu überprüfen. Sie berichteten von einer Aktivierungszunahme im Bereich des rechten DLPFC für Träger des Einzelnukleotidpolymorphismus rs1006737 in *CACNA1C* (Bigos et al., 2010, Genetic variation in *CACNA1C* affects brain circuitries related to mental illness: Arch Gen Psychiatry, v. 67, p. 939-45).

Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie die bisherige Datenlage infrage gestellt ist. Als Konsequenz muss eine Neubeurteilung und Neuinterpretation des Einflusses von rs1006737 in *CACNA1C* auf neuronale Korrelate im Arbeitsgedächtnisprozess erfolgen.

Summary

The present study was focused on the question whether there are neuronal correlates of working memory which show association with the influence of the single nucleotide polymorphism rs1006737 of the gene *CACNA1C*. In the past rs1006737 in *CACNA1C* was repeatedly associated with high susceptibility for bipolar disorder and schizophrenia. According to current assumptions, variation in neuronal structures and processes underlies these disorders and has an impact on working memory especially in dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC).

In my thesis I investigated 94 healthy human subjects using functional magnetic resonance tomography. It was shown that homozygous A-allele carriers present significant lower activation in the right DLPFC during working memory execution compared with heterozygous and non-risk-allele carriers. These results are in contrast to previous studies. Data published so far provide evidence that the influence of rs1006737 leads to stronger activation in the right DLPFC. In 2010, Bigos and colleagues calculated an activation analysis to prove this effect. They found an increase of activation within the range of the right DLPFC which is associated with carriers of the single nucleotide polymorphism rs1006737 in *CACNA1C* (Bigos et al., 2010, Genetic variation in *CACNA1C* affects brain circuitries related to mental illness: Arch Gen Psychiatry, v. 67, p. 939-45).

Summing up, the results obtained in the present study challenge previous data. In consequence, a re-evaluation and re-interpretation of the influence of rs1006737 in the *CACNA1C* gene on neuronal correlates in the working memory process is demanded.

8 Anhang

In folgendem Anhang werden Grundlagen zum menschlichen Arbeitsgedächtnis und zum Kanalaufbau des spannungsgesteuerten Calciumkanals beschrieben. Diese Informationen sind wichtig, um die Hintergründe der Arbeit umfassend zu verstehen.

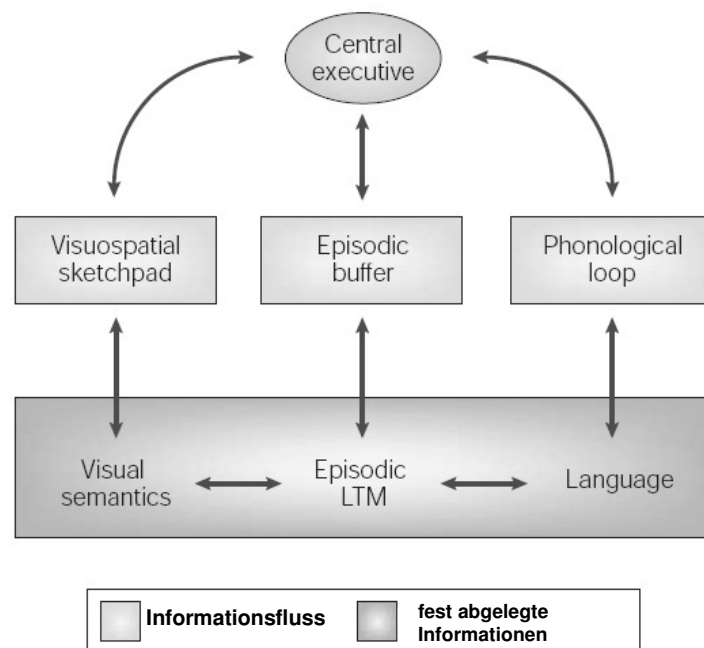
8.1 Das Arbeitsgedächtnis

Das Arbeitsgedächtnis („working memory“) beschreibt zunächst eine Teilfunktion des Gehirns, die selbst aus verschiedenen Prozessen besteht. Der Begriff hat sich ursprünglich aus der Vorstellung eines unitären Gedächtnissystems im Bereich der kognitiven Psychologie und Neurowissenschaften entwickelt. In den sechziger Jahren wurde diese Vorstellung kontrovers diskutiert und man gelangte schließlich zu dem Ergebnis, dass das Gedächtnis aus mehreren Systemen bestehen muss, um Informationen zeitgleich aufnehmen, behalten und verarbeiten zu können. Nicht zuletzt gaben Studien mit Menschen, die eine Gehirnschädigung erlitten hatten, Hinweise auf diese Vermutung. Die Schädigung geht meist mit Ausfällen und Defiziten in der Hirnfunktion einher. Dabei konnte man feststellen, dass bei manchen Patienten, Teile der Hirnfunktion zwar ausgefallen waren, jedoch andere Teilbereiche noch vollständig funktionierten (Baddeley, 2010). Diese Erkenntnis liefert wichtige Hinweise auf das Vorliegen mehrerer Untersysteme und die Bedeutung des Arbeitsgedächtnisses als eines davon.

Erstmals wurde dann der Begriff „working memory“ von Miller, Galanter und Pribram (1960) in ihrem Buch „Plans and the Structure of behaviour“ etabliert. In der Literatur wird die Definition des Arbeitsgedächtnisbegriffs in unterschiedlichster Weise beschrieben. Baddeley zum Beispiel beschreibt es als die Fähigkeit, sich über kurze Zeit Informationen zu merken, während man gleichzeitig in der Lage bleibt, andere Aufgaben, wie logische Schlussfolgerungen, Verstehen und Lernen, auszuführen, diese also kognitiv zu bearbeiten (Baddeley, 2010). Beispielsweise können wir uns eine Telefonnummer einprägen, während wir sie gleichzeitig in das Telefon eintippen (Pezzulo, 2007). Informationen können aktiv („on line“) behalten und bearbeitet werden (Goldman-Rakic, 1996). Als weiteres Charakteristikum gilt die limitierte Kapazität des Arbeitsgedächtnisses. Diese Kapazität schwankt auch von Individuum zu Individuum (Just und Carpenter, 1992) und bewirkt, dass bei unterschiedlichen Menschen eine

unterschiedlich gute Ausübung von bestimmten Aufgaben erfolgt, die an das Arbeitsgedächtnis gekoppelt sind (Conway et al., 2008).

Das Arbeitsgedächtnis unterstützt die Denkprozesse des menschlichen Gehirns, indem es als Nahtstelle zwischen der Erfassung von Informationen, dem Langzeitgedächtnis und der Aktion bzw. Ausführung fungiert (Baddeley, 2003). Es kann Informationen aus dem Langzeitgedächtnis aufrufen, um diese zu bearbeiten oder dort bearbeitet abzulegen. Die Theorie, dass das Arbeitsgedächtnis Informationen limitiert aufnehmen und aktiv bearbeiten kann, unterscheidet es von der Theorie über das reine Kurzzeitgedächtnis, welches die Informationen nur aufbewahrt, aber nicht bearbeitet (Pezzulo, 2007). Das Arbeitsgedächtnis umfasst somit zwangsläufig verschiedene Prozesse, die alle an der Informationsverarbeitung, -weiterleitung und -aufbewahrung beteiligt sind. Das Multikomponentenmodell von Baddeley stellt einen Versuch dar, diese Prozesse näher zu beschreiben (Baddeley, 2003). 1974 schon vermuteten Baddeley und Hitch, dass das Arbeitsgedächtnis aus drei Komponenten besteht. Im Laufe der Zeit hat sich eine vierte Komponente dazu ergeben (siehe Abb. 28).



nach Baddeley (2003)

Abbildung 28: Das Multikomponentenmodell zur Beschreibung des Arbeitsgedächtnisses (Baddeley, 2003).

So besteht das Arbeitsgedächtnis nach Baddeley aus einer zentralen Komponente, der Central Executive, und aus drei weiteren Untergruppen, aus dem Visuospatial Sketchpad, aus dem Episodic Buffer und der Phonological Loop. Diese stehen wiederum alle mit dem Langzeitgedächtnis („long term memory“, LTM) in direkter Verbindung. Pezzulo (2007) beschreibt in seinem Skript diese einzelnen Teilbereiche stichpunktartig.

- Die Central Executive stellt dabei den Hauptbezugspunkt dar. Sie ist verantwortlich für alle ausführenden Funktionen, eine aktive Handlung inbegriffen. Sie koordiniert, wohin die Aufmerksamkeit gerichtet werden soll, unterdrückt dabei irrelevante Informationen und ungewollte Handlungen und überwacht die Informationen, die aufgenommen werden. All diese Prozesse und auch die weiteren Untergruppen des working memory werden dabei parallel von der Central Executive bearbeitet.

Die drei weiteren Systeme beziehen sich nun auf die Aufnahme und Verarbeitung von Sinneseindrücken.

- Die Phonological Loop ist in diesem Falle dafür verantwortlich auditorische Sinneseindrücke zu speichern, indem das Gehörte immer und immer wiederholt wird. Dabei wird das auditorisch Wahrgenommene eingeübt, was dessen schnellem Vergessen entgegenwirkt. Es ist zum Beispiel möglich, eine Telefonnummer nicht sofort zu vergessen, wenn man sie sich immer wieder (wie eine Art Endlosschleife) aufsagt.

- Das Visuospatial Sketchpad erlaubt es, visuelle und räumliche Informationen zu behalten und zu bearbeiten. Das heißt, dieses System besteht aus diesen zwei Subsystemen, welche dazu beitragen, dass visuelle Eindrücke im Gehirn beliebig gedreht und räumlich umgestellt werden können. Beispielsweise lassen sich aus der Kombination der Buchstaben J und D die Form eines Regenschirms darstellen (Baddeley, 2003).

- Der Episodic Buffer kann für kurze Zeit die phonologischen, visuellen und räumlichen Informationen miteinander zu einer episodischen Gesamtdarstellung vereinen. Somit schafft er einen Bezug zum Langzeitgedächtnis.

Studien, die durch die Untersuchung von Patienten mit Hirnläsionen gemacht wurden, geben zudem einen Aufschluss auf die anatomische Lokalisation des Arbeitsgedächtnisses (Baddeley, 2003). Beispielsweise konnte in einer Läsionsstudie die Beteiligung des superioren frontalen Gyrus am Arbeitsgedächtnisprozess gezeigt werden (du Boisgueheneuc et al., 2006). Smith und Jonides (1997) untersuchten während der Durchführung von Arbeitsgedächtnisaufgaben mit Bildgebungsmethoden das Gehirn. Dabei konnten sie feststellen, dass das räumliche Gedächtnis eher rechts und das Verbal- und Objektgedächtnis eher links gelegen ist. Regionen im posterioren dorsalen parietalen Kortex scheinen mehr zum Abspeichern der Informationen beizutragen, wohingegen frontal ventrale Areale mehr zum Einüben der Informationen benutzt werden. Für unterschiedliche Arten der Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses (zum Beispiel visuell, räumlich, verbal) sind die Regionen in diesen Bereichen unterschiedlich stark eingebunden. Eine Region, die aber im gesamten Arbeitsgedächtnisprozess aktiv ist, ist der dorsolaterale Präfrontalkortex. Er scheint, im Gegensatz zur reinen Abspeicherung und Einübung, die Aufnahmekapazität des Arbeitsgedächtnisses zu modulieren und die Informationscodierung zu gewährleisten. Man könnte ihn daher mit der Central Executive der Einteilung nach Baddeley in Verbindung bringen (Smith und Jonides, 1997). Das Arbeitsgedächtnis ist also ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Funktionen und Untersysteme. So ist es einleuchtend, dass kleinste Störungen im Ablauf eines Prozesses Auswirkungen auf die Gesamtkapazität des Arbeitsgedächtnisses haben können. Die zuvor schon vorhandenen physiologischen interindividuellen Unterschiede in der Kapazität (Conway et al., 2008) werden in diesem Falle besonders verstärkt und können wissenschaftlich Aufschluss auf neurokognitive Störungen bei einer Erkrankung geben.

Besonders interessant ist die Störung des Funktionsablaufs innerhalb des Arbeitsgedächtnisses bei Schizophrenie. Mittlerweile belegen zahlreiche Studien (Cannon et al., 2005; Cannon et al., 2000; Tek et al., 2002; Vallar et al., 1997), dass bei dieser Erkrankung Prozesse im Arbeitsgedächtnis verändert sind. Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass auch bei Patienten mit Bipolarer Störung Funktionsabläufe im Arbeitsgedächtnis gestört sind (Ferrier et al., 1999; McGrath et al., 2001)

8.2 Kanalaufbau des spannungsgesteuerten Calciumkanals

Der Kanal ist aus fünf verschiedenen Untereinheiten zusammengesetzt, alpha1 (170 kDa), alpha2 (150 kDa), beta (52 kDa), delta (17–25 kDa) und gamma (32 kDa) (Dolphin, 2006). Die alpha2-, beta-, delta- und gamma-Untereinheiten besitzen Phosphorylierungs- und Glykosylierungsstellen und sind zudem für die Stabilität der alpha1-Untereinheit verantwortlich (Mannhold, 1995). Sie werden allgemein als Hilfsproteine für die alpha1-Untereinheit bezeichnet.

Die alpha1-Untereinheit bildet die Kanalpore und besitzt zusätzliche Bindungsstellen für Dihydropyridin, weitere für Transmitter und Toxine (Ertel et al., 2000). Jede der Untereinheiten gehört zu einer Genfamilie, die unterschiedlich viele Mitglieder besitzt. Zusätzlich bestehen für manche Untereinheiten weitere Varianten, welche durch Splicing zustande gekommen sind. Diese verschiedenen Varianten können sich erheblich in ihrer Funktion unterscheiden (Lacinová, 2005).

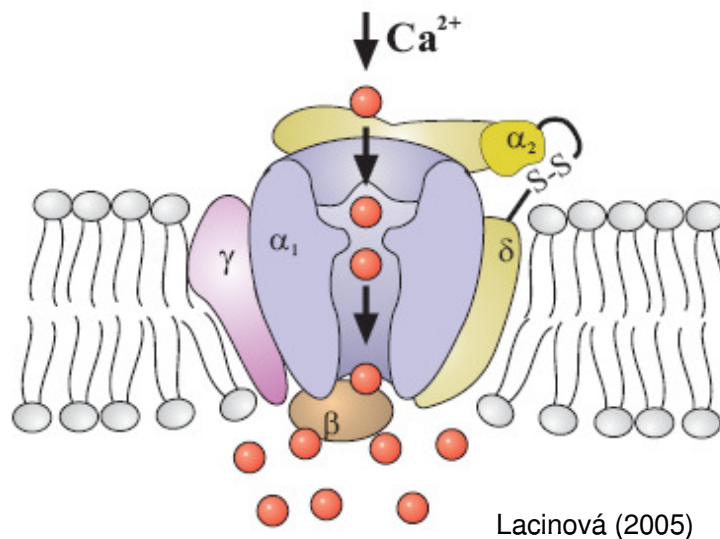


Abbildung 29: Aufbau eines spannungsgesteuerten Calciumkanals mit seinen Untereinheiten.

Alpha1-Untereinheit

Insgesamt sind bisher 10 Gene vervielfältigt worden, die alle jeweils für die alpha1-Untereinheit des Calciumkanals kodieren (Ertel et al., 2000). Je nach Art der alpha1-Untereinheit unterscheidet sich auch die Funktion und der Typ der Calciumkanäle.

Die L-Typ Calciumkanäle können sich aus vier verschiedenen Formen von alpha-Untereinheiten zusammensetzen, nämlich alpha1S, alpha1D, alpha1C und alpha1F. Die alpha1C-Untereinheit wird, wie oben schon erwähnt, von dem Gen *CACNA1C* kodiert (Ertel et al., 2000).

Der Aufbau der alpha1-Untereinheit besteht aus 4 Domänen mit jeweils 6 Transmembranproteinen (Schleifer, 1997). Diese liegen eingebettet in der Zellmembran, das heißt sie sind hydrophob. Die Pore bildet sich zwischen dem Segment 5 und dem Segment 6 der Transmembranproteine. Sie scheint einen Filter zu haben, der sie hochselektiv für Calciumionen werden lässt (Lacinova, 2005). Im Segment 4 sind fünf bis sechs positiv geladene Arginin und Lysinreste zu finden. Diese fungieren als Spannungssensor und kontrollieren somit den Einfluss der ebenfalls positiv geladenen Calciumionen. Insgesamt kann die Länge der Untereinheit zwischen 1870 und 2420 Aminosäuren betragen (Lacinova, 2005).

Beta-Untereinheit

Die beta-Untereinheit liegt komplett intrazellulär (siehe Abb. 29) und besitzt eine hohe Affinität zur porenbildenden alpha-Untereinheit. Sie wird in jedem spannungsgesteuerten Calciumkanal zusammen mit der alpha1-Untereinheit koexprimiert.

Es existieren mindestens vier verschiedene Varianten von beta-Untereinheiten (beta1, beta2, beta3, beta4). Die Funktion der beta-Untereinheiten liegt in der Vergrößerung der Öffnungswahrscheinlichkeit der Pore (Dolphin, 2006). Somit fördert sie den Calciumionenfluss in die Zelle (Wei et al., 1991). Außerdem bewirkt sie eine Beschleunigung der Inaktivierungskinetik des Kanals (Dolphin, 2006), das heißt unter dem Einfluss der beta-Untereinheit beschleunigt sich das Schließen des Calciumkanals. Dabei verlagert sich der Steady State des Kanals vermehrt in einen hyperpolarisierten Spannungszustand (Wei et al., 1991). Der alpha-Untereinheit dient sie als „Anstandsdame“ (Chaperon) und hilft diesem Protein, sich in eine korrekte Faltung zu bringen (Dolphin, 2006). Da die beta-Untereinheit eine Guanylat-Kinase ähnliche Domäne besitzt, wird sie der Familie der membranassoziierten Guanylat-Kinase-Proteinen zugeordnet. Dieser Protein-Familie werden häufig Stützfunktionen nachgesagt, die sich im Falle der beta-Untereinheit im „Chaperon-Verhalten“ bestätigen lassen.

Laut Lacinova (2005) beeinflusst die Expression der beta-Untereinheit nicht nur den Calciumfluss durch die Pore, sondern auch die Inhibition des Kanals durch

pharmakologische Substanzen. Somit kann sie auch eine Rolle für medikamentöse Therapien im Zusammenhang mit Substanzen, die auf den Calciumkanal wirken, spielen.

Alpha2/Delta-Untereinheit

Die alpha2- und die delta-Untereinheit werden höchstwahrscheinlich von demselben Gen kodiert (De Jongh et al., 1990). Nach der Translation entstehen daraus zwei verschiedene Proteine (Dolphin, 2006). Der delta-Teil der Untereinheit verankert die alpha2-Untereinheit durch ein einziges Segment in der Membran (Gurnett et al., 1996). Darüber hinaus beinhaltet es die Regionen, die wichtig für die Änderungen und die Kinetik vom Zustand der spannungssensitiven Aktivierung bis hin zur Deaktivierung im Steady State sind (Lacinova, 2005).

Die alpha2-Untereinheit besitzt an ihrem N-terminalen Ende eine Signalsequenz. Mit dieser Signalsequenz und dem Rest der Proteinstruktur liegt sie extrazellulär. Mittlerweile wurden vier verschiedene Typen von alpha2/delta-Untereinheiten vervielfältigt. Beide Untereinheiten sind durch eine Disulfidbrücke verbunden (De Jongh et al., 1990). Diese Untereinheit wiederum bezieht sich in ihrer Funktion stark auf die beta-Untereinheit (Birnbaumer et al., 1998). Denn die alpha2/delta-Untereinheit beschleunigt in Coexpression mit der alpha1- und der beta-Untereinheit die Aktivierungs- und Deaktivierungskinetik des Calciumkanals. Zudem steigert sie signifikant den maximalen Durchfluss der Calciumionen (Bangalore et al., 1996). Wie für die beta-Untereinheit oben beschrieben, scheint auch die alpha2/delta-Untereinheit einen Einfluss auf die Wirkung von Calciumkanalblockern zu haben. Es wird vermutet, dass diese Tatsache eine bedeutende Rolle im therapeutischen Bereich spielen könne, da die Expression von alpha2/delta-Untereinheiten in bestimmten Schmerzstadien hochreguliert sei (Lacinova, 2005).

Gamma-Untereinheit

Die gamma-Untereinheit ist ein in die Zellmembran eingelagertes Protein. Es besteht aus vier Transmembraneinheiten und ist stark glykosyliert. Auch von dieser Untereinheit existieren mehrere Varianten, die in unterschiedlicher Weise mit den restlichen Untereinheiten und dem alpha1-Porenprotein interagieren. Das heißt, die

Funktion der gamma-Untereinheit ist sowohl von der Variante als auch von dem Calciumkanaltyp abhängig. Singer und Kollegen konnten für die Koexprimierung mit der alpha1-, der alpha2/delta- und der beta-Untereinheit zeigen, dass eine Linksverschiebung der Kurve für den inaktivierten Steady State Zustand auftritt (Singer et al., 1991). Das Membranpotential verschiebt sich dabei um mehr als 30mV in den negativen Bereich. Regulatorische Einflüsse sind vor allem auf Interaktionen mit anderen Untereinheiten zurückzuführen.

Zum Beispiel konnten Wei und Kollegen zeigen, dass ohne das Vorhandensein der beta-Untereinheit kein Effekt der gamma-Untereinheit auf die Pore zustande kommt (Wei et al., 1991). Jedoch zeigen sich, gerade in Verbindung mit den restlichen Untereinheiten, Veränderungen im Schließverhalten des Calciumkanals und der Membranpolarisation.

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Multifaktorielles Entstehungsmodell	10
Abbildung 2: Biphasischer Verlauf des Krankheitsbildes der Bipolaren Störung	12
Abbildung 3: Konzept des „intermediären Phänotyps“	14
Abbildung 4: Eigendrehimpuls eines Wasserstoffatomkerns	16
Abbildung 5: Achsenbezeichnungen im MRT	17
Abbildung 6: Ausrichtung der Wasserstoffatome im Magnetfeld	17
Abbildung 7: K-Raum	19
Abbildung 8: Fouriertransformation	19
Abbildung 9: Zerebraler Blutfluss	21
Abbildung 10: Hämodynamische Antwortfunktion	22
Abbildung 11: Zeitlicher Ablauf der Messung	23
Abbildung 12: Aufnahme eines Bewegungsartefakts	24
Abbildung 13: Translation und Rotation mit jeweils 3 Freiheitsgraden	25
Abbildung 14: MNI-Standardgehirn	26
Abbildung 15: Normalisierung	26
Abbildung 16: Darstellung verschieden stark geglätteter Bilder	27
Abbildung 17: Umgekehrter U-förmiger Verlauf der fMRT-Signalkurve	32
Abbildung 18: Schematische Darstellung des Chromosoms 12	33
Abbildung 19: Probandencharakteristik	42
Abbildung 20: Designmatrix in der First Level Analyse	45
Abbildung 21: Kontrastbilder jedes einzelnen Probanden	45
Abbildung 22: Erweiterung der Designmatrix	47
Abbildung 23: N-back Aufgabenausführung	48
Abbildung 24: Räumlich Darstellung der Aktivierungen und Deaktivierungen	50
Abbildung 25: Ergebnis der ROI Analyse für den rechten DLPFC	50
Abbildung 26: Darstellung der ANOVA-Ergebnisse	51
Abbildung 27: Glasgehirndarstellung der Ganzkopf-Analyse	52
Abbildung 28: Multikomponentenmodell	62
Abbildung 29: Aufbau eines Spannungsgesteuerten Calciumkanals	65

10 Literaturverzeichnis

- Adler, L. E., and M. C. Waldo, 1991, Counterpoint: a sensory gating-hippocampal model of schizophrenia, *Schizophr Bull*, v. 17, p. 19-24.
- Almeida, J. R., A. Versace, S. Hassel, D. J. Kupfer, and M. L. Phillips, 2010, Elevated amygdala activity to sad facial expressions: a state marker of bipolar but not unipolar depression, *Biol Psychiatry*, v. 67, p. 414-21.
- Baddeley, A., 2003, Working memory: looking back and looking forward, *Nat Rev Neurosci*, v. 4, p. 829-39.
- Baddeley, A., 2010, Working memory, *Curr Biol*, v. 20, p. R136-40.
- Bangalore, R., G. Mehrke, K. Gingrich, F. Hofmann, and R. S. Kass, 1996, Influence of L-type Ca channel alpha 2/delta-subunit on ionic and gating current in transiently transfected HEK 293 cells, *Am J Physiol*, v. 270, p. H1521-8.
- Barch, D. M., Y. I. Sheline, J. G. Csernansky, and A. Z. Snyder, 2003, Working memory and prefrontal cortex dysfunction: specificity to schizophrenia compared with major depression, *Biol Psychiatry*, v. 53, p. 376-84.
- Barnett, J. and J. Smoller, 2009, The genetics of bipolar disorder, *Neuroscience*, v. 164, p.331-43.
- Bennett, C. M., and M. B. Miller, 2010, How reliable are the results from functional magnetic resonance imaging?, *Ann N Y Acad Sci*, v. 1191, p. 133-55.
- Bhat, S., D. T. Dao, C. E. Terrillion, M. Arad, R. J. Smith, N. M. Soldatov, and T. D. Gould, 2012, CACNA1C (Cav1.2) in the pathophysiology of psychiatric disease: *Prog Neurobiol*, v. 99, p. 1-14.
- Bigos, K. L., V. S. Mattay, J. H. Callicott, R. E. Straub, R. Vakkalanka, B. Kolachana, T. M. Hyde, B. K. Lipska, J. E. Kleinman, and D. R. Weinberger, 2010, Genetic variation in CACNA1C affects brain circuitries related to mental illness, *Arch Gen Psychiatry*, v. 67, p. 939-45.
- Birnbaumer, L., N. Qin, R. Olcese, E. Tareilus, D. Platano, J. Costantin, and E. Stefani, 1998, Structures and functions of calcium channel beta subunits, *J Bioenerg Biomembr*, v. 30, p. 357-75.
- Brickenkamp, R., 2002, *Der Aufmerksamkeits-Belastungstest d2*, Göttingen, Hogrefe.
- Callicott, J. H., M. F. Egan, V. S. Mattay, A. Bertolino, A. D. Bone, B. Verchinski, and D. R. Weinberger, 2003, Abnormal fMRI response of the dorsolateral prefrontal cortex in cognitively intact siblings of patients with schizophrenia, *Am J Psychiatry*, v. 160, p. 709-19.

- Callicott, J. H., V. S. Mattay, B. A. Verchinski, S. Marenco, M. F. Egan, and D. R. Weinberger, 2003, Complexity of prefrontal cortical dysfunction in schizophrenia: more than up or down: *Am J Psychiatry*, v. 160, p. 2209-15.
- Callicott, J. H., V. S. Mattay, A. Bertolino, K. Finn, R. Coppola, J. A. Frank, T. E. Goldberg, and D. R. Weinberger, 1999, Physiological characteristics of capacity constraints in working memory as revealed by functional MRI, *Cereb Cortex*, v. 9, p. 20-6.
- Cannon, T. D., D. C. Glahn, J. Kim, T. G. Van Erp, K. Karlsgodt, M. S. Cohen, K. H. Nuechterlein, S. Bava, and D. Shirinyan, 2005, Dorsolateral prefrontal cortex activity during maintenance and manipulation of information in working memory in patients with schizophrenia, *Arch Gen Psychiatry*, v. 62, p. 1071-80.
- Cannon, T. D., M. O. Huttunen, J. Lonnqvist, A. Tuulio-Henriksson, T. Pirkola, D. Glahn, J. Finkelstein, M. Hietanen, J. Kaprio, and M. Koskenvuo, 2000, The inheritance of neuropsychological dysfunction in twins discordant for schizophrenia, *Am J Hum Genet*, v. 67, p. 369-82.
- Cardno, A. G. and I. I. Gottesman, 2000, Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics, *Am J Med Genet*, v. 97, p. 12-7.
- Carter, C. S., W. Perlstein, R. Ganguli, J. Brar, M. Mintun, and J. D. Cohen, 1998, Functional hypofrontality and working memory dysfunction in schizophrenia, *Am J Psychiatry*, v. 155, p. 1285-7.
- Conway, A. R. A., C. Jarrold, M. J. Kane, A. Miyake, and J. N. Towse, 2008, *Variation in Working Memory*, Oxford University Press, New York, p. 348.
- Dao, D. T., P. B. Mahon, X. Cai, C. E. Kovacsics, R. A. Blackwell, M. Arad, J. Shi, P. P. Zandi, P. O'Donnell, J. A. Knowles, M. M. Weissman, W. Coryell, W. A. Scheftner, W. B. Lawson, D. F. Levinson, S. M. Thompson, J. B. Potash, and T. D. Gould, 2010, Mood disorder susceptibility gene CACNA1C modifies mood-related behaviors in mice and interacts with sex to influence behavior in mice and diagnosis in humans, *Biol Psychiatry*, v. 68, p. 801-10.
- De Jongh, K. S., C. Warner, and W. A. Catterall, 1990, Subunits of purified calcium channels. Alpha 2 and delta are encoded by the same gene, *J Biol Chem*, v. 265, p. 14738-41.
- Dickinson, D., M. E. Ramsey, and J. M. Gold, 2007, Overlooking the obvious: a meta-analytic comparison of digit symbol coding tasks and other cognitive measures in schizophrenia, *Arch Gen Psychiatry*, v. 64, p. 532-42.
- Dolphin, A. C., 2006, A short history of voltage-gated calcium channels, *Br J Pharmacol*, v. 147 Suppl 1, p. S56-62.

- du Boisgueheneuc, F., R. Levy, E. Volle, M. Seassau, H. Duffau, S. Kinkingnehun, Y. Samson, S. Zhang, and B. Dubois, 2006, Functions of the left superior frontal gyrus in humans: a lesion study, *Brain*, v. 129, p. 3315-28.
- Eickhoff, S. B., S. Heim, K. Zilles, and K. Amunts, 2006, Testing anatomically specified hypotheses in functional imaging using cytoarchitectonic maps, *Neuroimage*, v. 32, p. 570-82.
- Ellison-Wright, I., D. C. Glahn, A. R. Laird, S. M. Thelen, and E. Bullmore, 2008, The anatomy of first-episode and chronic schizophrenia: an anatomical likelihood estimation meta-analysis, *Am J Psychiatry*, v. 165, p. 1015-23.
- Erk, S., A. Meyer-Lindenberg, K. Schnell, C. Opitz von Boberfeld, C. Esslinger, P. Kirsch, O. Grimm, C. Arnold, L. Haddad, S. H. Witt, S. Cichon, M. M. Nothen, M. Rietschel, and H. Walter, 2010, Brain function in carriers of a genome-wide supported bipolar disorder variant, *Arch Gen Psychiatry*, v. 67, p. 803-11.
- Ertel, E. A., K. P. Campbell, M. M. Harpold, F. Hofmann, Y. Mori, E. Perez-Reyes, A. Schwartz, T. P. Snutch, T. Tanabe, L. Birnbaumer, R. W. Tsien, and W. A. Catterall, 2000, Nomenclature of voltage-gated calcium channels, *Neuron*, v. 25, p. 533-5.
- Evans, A. C., D. L. Collins, S. R. Mills, E. D. Brown, R. L. Kelly, and T. M. Peters, 1993, 3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes, *Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, IEEE Conference Record*, San Francisco, p. 1813.
- Ferreira, M. A., M. C. O'Donovan, Y. A. Meng, I. R. Jones, D. M. Ruderfer, L. Jones, J. Fan, G. Kirov, R. H. Perlis, E. K. Green, J. W. Smoller, D. Grozeva, J. Stone, I. Nikolov, K. Chambert, M. L. Hamshere, V. L. Nimgaonkar, V. Moskvina, M. E. Thase, S. Caesar, G. S. Sachs, J. Franklin, K. Gordon-Smith, K. G. Ardlie, S. B. Gabriel, C. Fraser, B. Blumenstiel, M. Defelice, G. Breen, M. Gill, D. W. Morris, A. Elkin, W. J. Muir, K. A. McGhee, R. Williamson, D. J. MacIntyre, A. W. MacLean, C. D. St. M. Robinson, M. Van Beck, A. C. Pereira, R. Kandaswamy, A. McQuillin, D. A. Collier, N. J. Bass, A. H. Young, J. Lawrence, I. N. Ferrier, A. Anjorin, A. Farmer, D. Curtis, E. M. Scolnick, P. McGuffin, M. J. Daly, A. P. Corvin, P. A. Holmans, D. H. Blackwood, H. M. Gurling, M. J. Owen, S. M. Purcell, P. Sklar, and N. Craddock, 2008, Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder, *Nat Genet*, v. 40, p. 1056-8.
- Ferrier, I. N., B. R. Stanton, T. P. Kelly, and J. Scott, 1999, Neuropsychological function in euthymic patients with bipolar disorder, *Br J Psychiatry*, v. 175, p. 246-51.
- Fink, G. and F. Schneider, 2007, Funktionelle MRT in Psychiatrie und Neurologie. Kapitel 3 - Grundlagen der Morphometrie und Integration anatomischer und funktioneller Bilddaten, eds. P. Pieperhoff, H. Mohlberg and K. Amunts, Berlin Heidelberg, Springer Verlag.

- Friston, K. J., J. T. Ashburner, S. J. Kiebel, T. E. Nichols, and W. D. Penny, 2007, Statistical Parametric Mapping, The Analysis of Functional Brain Images, London, Amsterdam, Burlington, San Diego, Elsevier - Academic press, p. 656.
- Friston, K. J., P. F. Liddle, C. D. Frith, S. R. Hirsch, and R. S. Frackowiak, 1992, The left medial temporal region and schizophrenia. A PET study, *Brain*, v. 115, p. 367-82.
- Frith, C. D., K. J. Friston, S. Herold, D. Silbersweig, P. Fletcher, C. Cahill, R. J. Dolan, R. S. Frackowiak, and P. F. Liddle, 1995, Regional brain activity in chronic schizophrenic patients during the performance of a verbal fluency task, *Br J Psychiatry*, v. 167, p. 343-9.
- Gaser, C., 2007, Räumliche Vorverarbeitung funktioneller Bilddaten, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Glahn, D. C., J. D. Ragland, A. Abramoff, J. Barrett, A. R. Laird, C. E. Bearden, and D. I. Velligan, 2005, Beyond hypofrontality: a quantitative meta-analysis of functional neuroimaging studies of working memory in schizophrenia, *Hum Brain Mapp*, v. 25, p. 60-9.
- Gleixner, C., M. Müller, and S.-B. Wirth, 2011, Neurologie und Psychiatrie für Studium und Praxis, Breisach am Rhein, Medizinische Verlags- und Informationsdienste, p. 452.
- Gold, J. M., C. Carpenter, C. Randolph, T. E. Goldberg, and D. R. Weinberger, 1997, Auditory working memory and Wisconsin Card Sorting Test performance in schizophrenia, *Arch Gen Psychiatry*, v. 54, p. 159-65.
- Goldman-Rakic, P. S., 1996, Regional and cellular fractionation of working memory, *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 93, p. 13473-80.
- Green, E. K., D. Grozeva, I. Jones, L. Jones, G. Kirov, S. Caesar, K. Gordon-Smith, C. Fraser, L. Forty, E. Russell, M. L. Hamshere, V. Moskvina, I. Nikolov, A. Farmer, P. McGuffin, P. A. Holmans, M. J. Owen, M. C. O'Donovan, and N. Craddock, 2010, The bipolar disorder risk allele at CACNA1C also confers risk of recurrent major depression and of schizophrenia, *Mol Psychiatry*, v. 15, p. 1016-22.
- Green, M. F., 1996, What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia?, *Am J Psychiatry*, v. 153, p. 321-30.
- Gurnett, C. A., M. De Waard, and K. P. Campbell, 1996, Dual function of the voltage-dependent Ca²⁺ channel alpha 2 delta subunit in current stimulation and subunit interaction, *Neuron*, v. 16, p. 431-40.

- Hall, J., H. C. Whalley, K. Marwick, J. McKirdy, J. Sussmann, L. Romaniuk, E. C. Johnstone, H. I. Wan, A. M. McIntosh, and S. M. Lawrie, 2010, Hippocampal function in schizophrenia and bipolar disorder, *Psychol Med*, v. 40, p. 761-70.
- Heckers, S., 2001, Neuroimaging studies of the hippocampus in schizophrenia, *Hippocampus*, v. 11, p. 520-8.
- Honea, R., T. J. Crow, D. Passingham, and C. E. Mackay, 2005, Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies, *Am J Psychiatry*, v. 162, p. 2233-45.
- Horwitz, B., K. J. Friston, and J. G. Taylor, 2000, Neural modeling and functional brain imaging: an overview, *Neural Netw*, v. 13, p. 829-46.
- Jansen, A., 2004, Atypische Lateralisation kognitiver Hirnfunktionen - Funktionelle MRT-Topographie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster.
- Just, M. A. and P. A. Carpenter, 1992, A capacity theory of comprehension: individual differences in working memory, *Psychol Rev*, v. 99, p. 122-49.
- Karow, T. and R. Lang-Roth, 2008, Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden, Eigenverlag Thomas Karow, Ruth Lang-Roth.
- Kordeli, E., S. Lambert, and V. Bennett, 1995, AnkyrinG. A new ankyrin gene with neural-specific isoforms localized at the axonal initial segment and node of Ranvier, *J Biol Chem*, v. 270, p. 2352-9.
- Krug, A., V. Nieratschker, V. Markov, S. Krach, A. Jansen, K. Zerres, T. Eggermann, T. Stocker, N. J. Shah, J. Treutlein, T. W. Muhleisen, and T. Kircher, 2010, Effect of CACNA1C rs1006737 on neural correlates of verbal fluency in healthy individuals, *Neuroimage*, v. 49, p. 1831-6.
- Lacinova, L., 2005, Voltage-dependent calcium channels, *Gen Physiol Biophys*, v. 24 Suppl 1, p. 1-78.
- Lezak, M., 1995, Neuropsychological Assessment, Oxford, Oxford University Press.
- Maldjian, J. A., P. J. Laurienti, and J. H. Burdette, 2004, Precentral gyrus discrepancy in electronic versions of the Talairach atlas, *Neuroimage*, v. 21, p. 450-5.
- Maldjian, J. A., P. J. Laurienti, R. A. Kraft, and J. H. Burdette, 2003, An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets, *Neuroimage*, v. 19, p. 1233-9.
- Mannhold, R., 1995, Calcium antagonists of the dihydropyridine type: pharmaceutical chemistry and molecular pharmacology, *Pharm Unserer Zeit*, v. 24, p. 137-53.

- Manoach, D. S., D. Z. Press, V. Thangaraj, M. M. Searl, D. C. Goff, E. Halpern, C. B. Saper, and S. Warach, 1999, Schizophrenic subjects activate dorsolateral prefrontal cortex during a working memory task, as measured by fMRI, *Biol Psychiatry*, v. 45, p. 1128-37.
- McGrath, J., B. Chapple, and M. Wright, 2001, Working memory in schizophrenia and mania: correlation with symptoms during the acute and subacute phases, *Acta Psychiatr Scand*, v. 103, p. 181-8.
- McGuffin, P., F. Rijdsdijk, M. Andrew, P. Sham, R. Katz, and A. Cardno, 2003, The heritability of bipolar affective disorder and the genetic relationship to unipolar depression, *Arch Gen Psychiatry*, v. 60, p. 497-502.
- Meyer-Lindenberg, A., 2009, Neural connectivity as an intermediate phenotype: brain networks under genetic control, *Hum Brain Mapp*, v. 30, p. 1938-46.
- Meyer-Lindenberg, A., and D. R. Weinberger, 2006, Intermediate phenotypes and genetic mechanisms of psychiatric disorders, *Nat Rev Neurosci*, v. 7, p. 818-27.
- Meyer-Lindenberg, A. S., R. K. Olsen, P. D. Kohn, T. Brown, M. F. Egan, D. R. Weinberger, and K. F. Berman, 2005, Regionally specific disturbance of dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in schizophrenia, *Arch Gen Psychiatry*, v. 62, p. 379-86.
- Meyer-Lindenberg, A., J. B. Poline, P. D. Kohn, J. L. Holt, M. F. Egan, D. R. Weinberger, and K. F. Berman, 2001, Evidence for abnormal cortical functional connectivity during working memory in schizophrenia, *Am J Psychiatry*, v. 158, p. 1809-17.
- Mier, D., P. Kirsch, and A. Meyer-Lindenberg, 2010, Neural substrates of pleiotropic action of genetic variation in COMT: a meta-analysis, *Mol Psychiatry*, v. 15, p. 918-27.
- Miller, G., E. Galanter, and K. Pribram, 1960, *Plans and the structure of behavior*, New York, Holt, Rinehart and Winston.
- Moskvina, V., N. Craddock, P. Holmans, I. Nikolov, J. S. Pahwa, E. Green, M. J. Owen, and M. C. O'Donovan, 2009, Gene-wide analyses of genome-wide association data sets: evidence for multiple common risk alleles for schizophrenia and bipolar disorder and for overlap in genetic risk, *Mol Psychiatry*, v. 14, p. 252-60.
- Möller, H.-J., G. Laux, and A. Deister, 2009, *Psychiatrie und Psychotherapie*, Stuttgart, Thieme Verlag.
- Mothersill, O., S. Kelly, E. J. Rose, and G. Donohoe, 2012, The effects of psychosis risk variants on brain connectivity: a review, *Front Psychiatry*, v. 3, p. 18.

- Munafo, M. R., S. M. Brown, and A. R. Hariri, 2008, Serotonin transporter (5-HTTLPR) genotype and amygdala activation: a meta-analysis, *Biol Psychiatry*, v. 63, p. 852-7.
- Nyegaard, M., D. Demontis, L. Foldager, A. Hedemand, T. J. Flint, K. M. Sorensen, P. S. Andersen, M. Nordentoft, T. Werge, C. B. Pedersen, D. M. Hougaard, P. B. Mortensen, O. Mors, and A. D. Borglum, 2010, CACNA1C (rs1006737) is associated with schizophrenia, *Mol Psychiatry*, v. 15, p. 119-21.
- O'Donovan, M. C., N. Craddock, N. Norton, H. Williams, T. Peirce, V. Moskvina, I. Nikolov, M. Hamshere, L. Carroll, L. Georgieva, S. Dwyer, P. Holmans, J. L. Marchini, C. C. Spencer, B. Howie, H. T. Leung, A. M. Hartmann, H. J. Moller, D. W. Morris, Y. Shi, G. Feng, P. Hoffmann, P. Propping, C. Vasilescu, W. Maier, M. Rietschel, S. Zammit, J. Schumacher, E. M. Quinn, T. G. Schulze, N. M. Williams, I. Giegling, N. Iwata, M. Ikeda, A. Darvasi, S. Shifman, L. He, J. Duan, A. R. Sanders, D. F. Levinson, P. V. Gejman, S. Cichon, M. M. Nothen, M. Gill, A. Corvin, D. Rujescu, G. Kirov, M. J. Owen, N. G. Buccola, B. J. Mowry, R. Freedman, F. Amin, D. W. Black, J. M. Silverman, W. F. Byerley, and C. R. Cloninger, 2008, Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up, *Nat Genet*, v. 40, p. 1053-5.
- Oeser, E., 2002, *Geschichte der Hirnforschung: Von der Antike bis zur Gegenwart*, Darmstadt, Primus Verlag/Wissenschaftliche Buchgesellschaft, p. 288.
- Ogawa, S., T. M. Lee, A. R. Kay, and D. W. Tank, 1990, Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation, *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 87, p. 9868-72.
- Oldfield, R. C., 1971, The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory, *Neuropsychologia*, v. 9, p. 97-113.
- Owen, A. M., K. M. McMillan, A. R. Laird, and E. Bullmore, 2005, N-back working memory paradigm: a meta-analysis of normative functional neuroimaging studies, *Hum Brain Mapp*, v. 25, p. 46-59.
- Owen, M. J., N. Craddock, and M. C. O'Donovan, 2010, Suggestion of roles for both common and rare risk variants in genome-wide studies of schizophrenia, *Arch Gen Psychiatry*, v.67, p. 667-73.
- Pabst, C. S., 2006, k-MED Lernkurs zu den Grundlagen der Magnetresonanztomographie, http://www.k-med.uni-giessen.de/ilias3/goto.php?target=sahs_2520&client_id=kmed.
- Pauling, L. and C. D. Coryell, 1936, The magnetic properties and structure of hemoglobin, oxyhemoglobin and carbonmonoxyhemoglobin, *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 22, p. 210-6.

- Paulus, F. M., J. Bedenbender, S. Krach, M. Pyka, A. Krug, J. Sommer, M. Mette, M. M. Nothen, S. H. Witt, M. Rietschel, T. Kircher, and A. Jansen, 2013, Association of rs1006737 in CACNA1C with alterations in prefrontal activation and fronto-hippocampal connectivity, *Hum Brain Mapp.*
- Perlstein, W. M., N. K. Dixit, C. S. Carter, D. C. Noll, and J. D. Cohen, 2003, Prefrontal cortex dysfunction mediates deficits in working memory and prepotent responding in schizophrenia, *Biol Psychiatry*, v. 53, p. 25-38.
- Pezawas, L., U. Moser, and S. Kasper, 2007, Die Neurobiologie der Depression - im Fokus: Imaging Genetics, *Journal für Neurologie, Neurochirurgie und Psychiatrie*, v. 8, p. 35-44.
- Pezzulo, G., 2007, Working Memory, http://cogsci.ucd.ie/introtocogsci/docs/working_memory.pdf gelesen am 19.01.11, Institute of Cognitive Science and Technology - CNR, Rome Italy.
- Reitan, R. M. and D. Wolfson, 1985, The Halstead Reitan neuropsychological test battery: Theory and clinical interpretation, Tuscon, Neuropsychology Press.
- Rajkowska, G., A. Halaris, and L. D. Selemon, 2001, Reductions in neuronal and glial density characterize the dorsolateral prefrontal cortex in bipolar disorder, *Biol Psychiatry*, v. 49, p. 741-52.
- Roberts, D. R., 1963, Schizophrenia and the brain, *J Neuropsychiatr*, v. 4, p. 71-9.
- Rose, E. J., and G. Donohoe, 2013, Brain vs Behavior: An Effect Size Comparison of Neuroimaging and Cognitive Studies of Genetic Risk for Schizophrenia, *Schizophr Bull.*, v39, p. 518-26.
- Rossler, W., H. J. Salize, J. van Os, and A. Riecher-Rossler, 2005, Size of burden of schizophrenia and psychotic disorders, *Eur Neuropsychopharmacol*, v. 15, p. 399-409.
- Roy, C. S. and C. S. Sherrington, 1890, On the Regulation of the Blood-supply of the Brain, *J Physiol*, v.11, p. 85-158.
- Schleifer, K.-J., 1997, Spannungsabhängiger L-Typ Calcium Kanal- Aufbau, Funktion und Modulation, *Pharmazie in unserer Zeit*, v. 26, p. 179–186.
- Schlosser, R., T. Gesierich, B. Kaufmann, G. Vucurevic, S. Hunsche, J. Gawehn, and P. Stoeter, 2003, Altered effective connectivity during working memory performance in schizophrenia: a study with fMRI and structural equation modeling, *Neuroimage*, v. 19, p. 751-63.
- Simon, A. E., K. Cattapan-Ludewig, S. Zmilacher, D. Arbach, K. Gruber, D. N. Dvorsky, B. Roth, E. Isler, A. Zimmer, and D. Umbricht, 2007, Cognitive functioning in the schizophrenia prodrome, *Schizophr Bull.*, v. 33, p. 761-71.

- Singer, D., M. Biel, I. Lotan, V. Flockerzi, F. Hofmann, and N. Dascal, 1991, The roles of the subunits in the function of the calcium channel, *Science*, v. 253, p. 1553-7.
- Sklar, P., J. W. Smoller, J. Fan, M. A. Ferreira, R. H. Perlis, K. Chambert, V. L. Nimgaonkar, M. B. McQueen, S. V. Faraone, A. Kirby, P. I. de Bakker, M. N. Ogdie, M. E. Thase, G. S. Sachs, K. Todd-Brown, S. B. Gabriel, C. Sougnez, C. Gates, B. Blumenstiel, M. Defelice, K. G. Ardlie, J. Franklin, W. J. Muir, K. A. McGhee, D. J. MacIntyre, A. McLean, M. VanBeck, A. McQuillin, N. J. Bass, M. Robinson, J. Lawrence, A. Anjorin, D. Curtis, E. M. Scolnick, M. J. Daly, D. H. Blackwood, H. M. Gurling, and S. M. Purcell, 2008, Whole-genome association study of bipolar disorder, *Mol Psychiatry*, v. 13, p. 558-69.
- Smith, E. E. and J. Jonides, 1997, Working memory: a view from neuroimaging, *Cogn Psychol*, v. 33, p. 5-42.
- Splawski, I., K. W. Timothy, L. M. Sharpe, N. Decher, P. Kumar, R. Bloise, C. Napolitano, P. J. Schwartz, R. M. Joseph, K. Condouris, H. Tager-Flusberg, S. G. Priori, M. C. Sanguinetti, and M. T. Keating, 2004, Ca(V)1.2 calcium channel dysfunction causes a multisystem disorder including arrhythmia and autism, *Cell*, v. 119, p. 19-31.
- Stephan, K. E., K. J. Friston, and C. D. Frith, 2009, Dysconnection in schizophrenia: from abnormal synaptic plasticity to failures of self-monitoring, *Schizophr Bull*, v. 35, p. 509-27.
- Stotz-Ingenlath, G., 2000, Epistemological aspects of Eugen Bleuler's conception of schizophrenia in 1911, *Med Health Care Philos*, v. 3, p. 153-9.
- Sullivan, P. F., K. S. Kendler, and M. C. Neale, 2003, Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies, *Arch Gen Psychiatry*, v. 60, p. 1187-92.
- Talairach, J. and P. Tournoux, 1988, Co-planar stereotaxic atlas of the human brain: 3-dimensional proportional system - an approach to cerebral imaging, New York, Thieme Medical Publishers.
- Tek, C., J. Gold, T. Blaxton, C. Wilk, R. P. McMahon, and R. W. Buchanan, 2002, Visual perceptual and working memory impairments in schizophrenia, *Arch Gen Psychiatry*, v. 59, p. 146-53.
- Thimm, M., T. Kircher, T. Kellermann, V. Markov, S. Krach, A. Jansen, K. Zerres, T. Eggemann, T. Stocker, N. J. Shah, M. M. Nothen, M. Rietschel, S. H. Witt, K. Mathiak, and A. Krug, 2011, Effects of a CACNA1C genotype on attention networks in healthy individuals, *Psychol Med*, v. 41, p. 1551-61.

- Tsien, R. W., P. T. Ellinor, and W. A. Horne, 1991, Molecular diversity of voltage-dependent Ca²⁺ channels, *Trends Pharmacol Sci*, v. 12, p. 349-54.
- U.S.NLM, 2011, Genetics Home Reference [Internet] - Your Guide to Understanding Genetic Conditions. Bethesda (MD): The Library, <http://ghr.nlm.nih.gov/> gelesen am 28.01.11, Service of the U.S.National Library of Medicine ® (US).
- Vallar, G., A. M. Di Betta, and M. C. Silveri, 1997, The phonological short-term store-rehearsal system: patterns of impairment and neural correlates, *Neuropsychologia*, v. 35, p. 795-812.
- Wechsler, D., 1997, Wechsler Memory Scale: Administration and Scoring Manual, San Antonio, The Psychological Corporation, Harcourt Brace & Co.
- Wei, X. Y., E. Perez-Reyes, A. E. Lacerda, G. Schuster, A. M. Brown, and L. Birnbaumer, 1991, Heterologous regulation of the cardiac Ca²⁺ channel alpha 1 subunit by skeletal muscle beta and gamma subunits. Implications for the structure of cardiac L-type Ca²⁺ channels, *J Biol Chem*, v. 266, p. 21943-7.
- Whalley, H. C., J. McKirdy, L. Romaniuk, J. Sussmann, E. C. Johnstone, H. I. Wan, A. M. McIntosh, S. M. Lawrie, and J. Hall, 2009, Functional imaging of emotional memory in bipolar disorder and schizophrenia, *Bipolar Disord*, v. 11, p. 840-56.
- Witthaus, H., C. Kaufmann, G. Böhner, S. Özgürdal, Y. Gudłowski, J. Gallinat, S. Ruhrmann, M. Brüne, A. Heinz, R. Klingebiel, and G. Juckel, 2009, Gray matter abnormalities in subjects at ultra-high risk for schizophrenia and first-episode schizophrenic patients compared to healthy controls, *Psychiatry Res*, v. 173, p. 163-9.
- Wolf, P., 2008, Funktionelle Magnet Resonanz Tomographie, <http://epileptologie-bonn.de/cms/upload/homepage/lehnertz/SeminarfMRTWolf.pdf> gelesen am 12.02.2011.
- Zihl, J., G. Gron, and A. Brunbauer, 1998, Cognitive deficits in schizophrenia and affective disorders: evidence for a final common pathway disorder, *Acta Psychiatr Scand*, v. 97, p. 351-7.

11 Akademische Lehrer

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Damen und Herren:

Adamkiewicz, Bartsch, Basler, Baum, Becker, Becker, Berger, Bien, Cubayko, Daut, Dettmeyer, Eilers, Engenhardt-Cabillic, Feuser, Fuchs-Winkelmann, Görg, Gress, Grundmann, Grzeschik, Hertl, Hofmann, Hoyer, Kircher, Klose, Kolb-Niemann, Koolman, Lill, Lohoff, Maier, Maisch, McGregor, Moll, Moosdorf, Mueller, Mutters, Neubauer, Neumüller, Nimsky, Oertel, Opitz, Pagenstecher, Plant, Renz, Richter, Ruchholtz, Sahmland, Schäfer, Schmidt, Schrader, Sekundo, Vogelmeier, Wagner, Weihe, Werner, Wulf, Zovko

12 Danksagung

Zuallererst möchte ich meinem Doktorvater und Betreuer Andreas Jansen für seine Zeit und sein großes Engagement danken, mit dem er diese Promotion begleitete. Er ließ es nie an Hilfe und Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit mangeln. Vielmehr nahm er sich stets die Zeit, produktive Tipps und hilfreiche Vorschläge anzubieten.

Gleichermaßen möchte ich mich auch bei Johannes Bedenbender und Frieder Paulus bedanken, die mir mit ihrer Hilfe und ihrem Verständnis der Sachverhalte immer wieder zur Seite standen. Ebenfalls danke ich Axel Krug besonders für die Bereitstellung von Informationen und Daten. Auch allen anderen Mitarbeitern der Forschungsgruppe BrainImaging möchte ich für die nette und freundschaftliche Atmosphäre und die Hilfsbereitschaft danken.

Außerdem möchte ich auch Prof. Dr. Tilo Kircher, dem Leiter der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, für seine Begeisterung und Engagement für die psychiatrische Forschung danken.

Christoph Pabst danke ich für die freundliche Bereitstellung von Bildmaterial.

Auch allen Korrekturlesern sei an dieser Stelle noch einmal herzlich gedankt:

Annika Pfarr, Christiane Oedekoven, Gerson Mette und Anita Mette.

Zum Schluss möchte ich noch die Menschen nennen, denen mein allergrößter Dank gilt. Meiner ganzen Familie, insbesondere meinen Eltern Claudia und Joachim Hartmann, danke ich für die langjährige und stetige Unterstützung und ihren Rückhalt während des Studiums, welches so ohne sie nicht möglich gewesen wäre.

Meinem Mann Gerson möchte ich von ganzem Herzen für seine unermüdliche Unterstützung und Liebe danken, die er mich jeden Tag aufs Neue spüren lässt.